COUNTWAY LIBRARY
HC 6EBD

BOSTON
MEDICAL LIBRARY
8 THE FENWAY

NAUNYN-SCHMIEDEBERGS

ARCHIV

FÜR

EXPERIMENTELLE PATHOLOGIE

UND

PHARMAKOLOGIE

UNTER MITWIRKUNG VON FACHGENOSSEN

HERAUSGEGEBEN VON

DR. L. KREHL † UND DR. W. STRAUB

EMER. PROF. DER SPEZIELLEN PATHOLOGIE UND THERAPIE IN HEIDELBERG

PROF. DER PHARMAKOLOGIE IN MÜNCHEN

202. BAND

MIT 175 TEXTABBILDUNGEN (263 EINZELBILDERN)

BERLIN

SPRINGER-VERLAG

1943

CATALOGUED
NOV 15 1955
A. J. D.

BOSTON MEDICAL
NOV 15 1955
LIBRARY

Printed in Germany

Inhalt des 202. Bandes

Seite

Barke, A., Der Einfluß des hydrostatischen Druckes auf die Resorption aus der Subkutis. Mit 1 Textabbildung 194

Bebber, van, s. C. Dienst

Blume, Wilhelm, und **Karl Sroka**, Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung des Paraldehyds und Metaldehyds an Fröschen, Fischen und Blutegeln. Mit 3 Textabbildungen 1

Blume, Wilhelm, und **Walter Vogel**, Vergleichende Untersuchungen über den Resorptionsverlauf des Cibazols nach intramuskulärer und rectaler Applikation. Mit 3 Textabbildungen 617

Blume, Wilhelm, und **Rolf Zöllner**, Über die Wirkung des Pervitins auf die Atmung der Ratte und des Meerschweinchens. Mit 2 Textabbildungen (4 Einzelbildern) 21

Böttger, Gerhard, Zur Charakterisierung und Wertbestimmung langsam infundierter oder eingeatmeter Gifte. Mit 2 Textabbildungen 502

Böttger, Gerhard, Über eine Vorrichtung zur Erzeugung nebelfreier Dampf-Luftgemische konstanter Zusammensetzung. Mit 1 Textabbildung . . . 546

Bugyi, B., s. B. v. Issekutz, M. v. Harangozó-Oroszy und A. Murányi

Busse, H., und **A. Struppler**, Über die Wirkung des Strophanthins auf den Blutdruck des gesunden Menschen. Mit 5 Textabbildungen (7 Einzelbildern) 132

Busse, H., und **A. Struppler**, Über die Wirkung des Bufotalins auf den Kreislauf des Gesunden. Mit 4 Textabbildungen 369

Credner, Karl, Zur Frage der Histaminbildung aus Histidin durch Ascorbinsäure. Mit 2 Textabbildungen 161

Credner, Karl, s. Peter Holtz

Credner, Karl, und **Wolfgang Schumrick**, Über die Beeinflussung der Darmwirkung des Histamins durch Aminosäuren. Mit 4 Textabbildungen . . . 155

Dienst, C., Sauerstoffmangel und Säurebasengleichgewicht. I. Mitteilung: Zur Frage der hypoxydotischen Gewebsacidose. Mit 1 Textabbildung . . 85

Seite

Dienst, C., und **van Bebber,** Sauerstoffmangel und Säurebasengleichgewicht. II. Von morphologischen Regulationsvorgängen im Blute bei Drosselung der Sauerstoffzufuhr und ihrer Abhängigkeit vom Säurebasengleichgewicht 326

Druckrey, Hermann, und **Wolfgang Loch,** Die Wirkung der Jodessigsäure, der Essigsäure und des Jods auf den Gewebsstoffwechsel. Mit 5 Textabbildungen (7 Einzelbildern) 236

Druckrey, H., R. Richter und **W. Rozynek,** Die Bedeutung verschiedener Substrate für den Stoffwechsel der Gewebe. II. Mitteilung: Glucose und Fructose. Mit 4 Textabbildungen 209

Düker, Heinrich, Psychopharmakologische Untersuchungen über die Wirkung von Keimdrüsenhormonen auf die geistige Leistungsfähigkeit. Mit 16 Textabbildungen 262

Eichler, O., Über Potentialgifte, insbesondere die Art der Wirkung von Acetylcholin in Versuchen am isolierten Darm. Mit 10 Textabbildungen 420

Eichler, O., G. Speda und **E. Wolff,** Über die Histaminwerte im Blutplasma bei Anoxämie. Mit 1 Textabbildung (2 Einzelbildern) 412

Erdélyi, Robert, Untersuchungen über die Wirkung von Nikotin auf psychische und physische Leistungen des Menschen 488

Frey, Ernst, Die Einengungs- und Verdünnungsarbeit der Niere 646

Genersich, P., s. B. v. Issekutz

Genuit, H., und **A. Junker,** Ein Beitrag zum Wirkungsmechanismus des Atropins. Mit 4 Textabbildungen 97

Genuit, H., und **W. Kübel,** Zum Wirkungsmechanismus des Acetylcholins. I. Mitteilung. Mit 6 Textabbildungen 110

Genuit, H., und **G. Mußgnug,** Zum Wirkungsmechanismus des Acetylcholins. II. Mitteilung. Mit 4 Textabbildungen 120

Gergely, J., Beiträge zur Rolle der Schilddrüse und des Nervensystems bei der chemischen Wärmeregulation. Mit 3 Textabbildungen 597

Geßner, Otto, Über die Potenzierung der Strychninwirkung durch Chinin . . 363

Hahn, Fritz, Über den Einfluß einiger Analeptica (Cardiazol, Coramin, Neospiran und Cycliton) auf die Körpertemperatur des normalen und narkotisierten Kaninchens. Mit 6 Textabbildungen (9 Einzelbildern) . . 165

Harangozó-Oroszy, M. v., s. B. v. Issekutz, A. Munányi und B. Bugyi

Seite

Heim, Fritz, Pharmakologische Wirkungen des Protamins Clupein. Mit 3 Textabbildungen (11 Einzelbildern) 228

Heim, F., und **W. Rohde,** Die Wirkung mehrerer Narkotica auf die Aktivität der Cholinesterase des Blutes. Mit 1 Textabbildung 215

Herken, Hans, Studien über Methämoglobinbildung. XXVII. Mitteilung: Nitrierte aromatische Hydroxylamine und 3, 3'-Dinitroazoxybenzol. Mit 4 Textabbildungen 70

Hesse, Erich, und **Gertrud Meißner,** Die Bleientgiftung 609

Heubner, Wolfgang, und **Margarete Stuhlmann,** Notiz über Benzedrin und Pervitin 594

Holtz, Peter, und **Karl Credner,** Oxytyraminbildung aus Tyramin durch Bestrahlung. Mit 4 Textabbildungen (6 Einzelbildern) 150

Hotovy, Rudolf, Über Herkunft und Eigenschaften der diuresefördernden und chloridausschwemmenden Substanz aus dem Hypophysenhinterlappen. Mit 6 Textabbildungen 219

Issekutz, B. v., und **P. Genersich,** Über den Synergismus der bronchialkrampflösenden Arzneimittel. Mit 1 Textabbildung 201

Issekutz, B. v., M. v. Harangozó-Oroszy, A. Munányi und **B. Bugyi,** Über die Atmung der Gewebsstücke bei hohem Sauerstoffdruck. Mit 4 Textabbildungen 550

Job, C., Über die Auslösung des Bezoldeffektes durch Mistel. Mit 1 Textabbildung 633

Junker, A., s. H. Genuit

Kesztyüs, L., s. St. Went und T. Szilágyi

Kiese, Manfred, und **Bernhard Weis,** Die Reduktion des Hämiglobins in den Erythrocyten verschiedener Tiere. Mit 2 Textabbildungen 493

Koch, R., s. P. Marquardt

Kübel, W., s. H. Genuit

Lehmann, Gunther, und **Hans Ferdinand Michaelis,** Tabakgenuß und Adrenalinspiegel. Mit 5 Textabbildungen 627

Linke, H., Untersuchungen über die zentralerregende Wirkung des Theophyllins 481

Loch, Wolfgang, s. Hermann Druckrey

Seite

Marquardt, P., und **R. Koch**, Untersuchungen über die Toxizität des d- und l-Adrenalins und der entsprechenden Ascorbinate 658

Meißner, Gertrud, s. Erich Hesse

Michaelis, Hans Ferdinand, s. Gunther Lehmann

Mihalik, I., s. T. Vályi Nagy

Murányi, A., s. B. v. Issekutz, M. v. Harangozó und B. Bugyi

Müsch, H. J., Über den Wirkungsmechanismus des Acetylcholins. Mit 2 Textabbildungen 467

Mußgnug, G., s. H. Genuit

Nagy, T. Vályi, und **I. Mihalik**, Herstellung und pharmakologische Prüfung von Azetylcholinphosphat und β-glycerinphosphorsaurem Azetylcholin. Mit 8 Textabbildungen (75 Einzelbildern) 44

Oettel, Hansjürgen, Vergleichende Untersuchungen über Azetylcholin und Bromcholinbromid. Mit 5 Textabbildungen (6 Einzelbildern) 314

Oettel, Hansjürgen, und **Gustav Schimert jr.**, Die Einwirkung von Strophanthusglykosiden auf die Coronardurchblutung. Mit 4 Textabbildungen (5 Einzelbildern) 459

Orzechowski, Gerhard, Über den Wirkungsmechanismus der Sympathicomimetica. XIII. Mitteilung: Wirkungen von Sympathicomimeticis auf den sensiblen Nerven 79

Pfeffer, K. H., und **R. Wetzel**, Über Antagonisten der Phlorrhizinwirkung. I. Mitteilung 395

Pfeffer, K. H., und **R. Wetzel**, Über Antagonisten der Phlorrhizinwirkung. II. Mitteilung 404

Rave, O., Über das Verhalten der Refraktärphase des Herzens bei Sympatoleinwirkung. Mit 1 Textabbildung 473

Richter, R., s. H. Druckrey und W. Rozynek

Rodewald, W., Die Wirkung von Hämatoporphyrin auf die Bildung von antigonadotropen Stoffen im Blut. Mit 1 Textabbildung 445

Rohde, W., s. F. Heim

Rozynek, W., s. H. Druckrey und R. Richter

Schimert jr., Gustav, s. Hansjürgen Oettel

Seite

Schlimme, Hildegard, Studien über Methämoglobin. XXVI. Mitteilung: Phenyl- und Tolylhydroxylamin. Mit 8 Textabbildungen 60

Schumrick, Wolfgang, s. Karl Credner

Speda, G., s. O. Eichler und E. Wolff

Sroka, Karl, s. Wilhelm Blume

Stasiak, A., Weitere Untersuchungen über die verschiedene Empfindlichkeit der Temporarien und Eskulenten gegen herzwirksame Stoffe 409

Struppler, A., s. H. Busse

Stuhlmann, Margarete, s. Wolfgang Heubner

Szilágyi, T., s. St. Went und L. Kesztyüs

Thaddea, S., und **R. Zoloff,** Experimentelle Untersuchungen über Steinbildung in den Harnwegen nach Sulfonamidzufuhr. Mit 3 Textabbildungen . . . 249

Thun, Helene, Pharmakologische Untersuchungen über die Eichenmistel und die amerikanische Mistel 642

Urban, Gerhart, Über experimentelle Verfärbungen der Haut durch einige Metalle und Metalloide. Mit 7 Textabbildungen (8 Einzelbildern) 337

Vogel, Walter, s. Wilhelm Blume

Voss, H. E., Über Kombinationen östrogener Wirkstoffe. Mit 1 Textabbildung 382

Weis, Bernhard, s. Manfred Kiese

Went, St., L. Kesztyüs und T. Szilágyi, Weitere Untersuchungen über die physiologische Wirkung der Adrenalylazoprotein-Antikörper. Mit 2 Textabbildungen 143

Werz, R. v., Sauerstoffmangel als Ursache des Kältetodes. Mit 8 Textabbildungen 561

Wetzel, Rolf, Über die Wirkung des Phlorrhizins auf die Zellatmung. III. Mitteilung. Mit 2 Textabbildungen 518

Wetzel, R., s. K. H. Pfeffer

Wolff, E., s. O. Eichler und G. Speda

Wulff, K., Die Wirkung von Pervitin auf das Zentralnervensystem des Frosches, insbesondere auf das Rückenmark. Mit 3 Textabbildungen . . . 449

Zoloff, R., s. S. Thaddea

Zöllner, Rolf, s. Wilhelm Blume

NOV 15 1955
LIBRARY

Aus dem Pharmakologischen Institut der Reichsuniversität Graz.
(Vorstand: Prof. Dr. W. Blume.)

Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung des Paraldehyds und Metaldehyds an Fröschen, Fischen und Blutegeln.

Von
Wilhelm Blume und **Karl Sroka.**

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 6. April 1943.)

Von den beiden Polymeren des Azetaldehyds, dem Paraldehyd und dem Metaldehyd, ist der Paraldehyd vielfach untersucht und als Schlafmittel seit langem in die Praxis eingeführt[1, 2]. Über die pharmakologische Wirkung des Metaldehyds liegt bisher unseres Wissen nur eine ältere Arbeit von Coppola[3] vor, der die Substanz an Fröschen studierte und mit der Wirkung des Azetaldehyds und des Paraldehyds verglich. Im übrigen finden sich in der Literatur vereinzelte Angaben über gelegentliche Beobachtungen der Wirkung des Metaldehyds an Warmblütern[4, 5]. In neuerer Zeit lenkten einige Vergiftungsfälle wieder die Aufmerksamkeit auf diese Substanz: Der Metaldehyd kommt als Metabrennstoff in Tablettenform in den Handel und führte durch Einnahme per os zu schweren Vergiftungen bei Kindern und Erwachsenen, die in einigen Fällen sogar tödlich verliefen[6, 7, 8, 9, 10].

Aus der Arbeit von Coppola, der an Fröschen experimentierte und gelegentlichen Beobachtungen an Warmblütern und am Menschen, geht hervor, daß Metaldehyd am Frosch, an Warmblütern und am Menschen eine erregende Wirkung entfaltet, und daß auch Krämpfe tetanischen Charakters namentlich am Menschen auftreten können. Diese Tatsache ist insofern bemerkenswert, als dem anderen Polymeren des Azetaldehyds, dem Paraldehyd, wie wir wissen, im allgemeinen nur eine schlafmachende Wirkung zukommt.

Da die Wirkung des Metaldehyds bisher noch wenig bekannt ist, war der Zweck der vorliegenden Untersuchungen, den Metaldehyd und

---

[1] Cervello, V.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **16**, 285 (1883). — [2] Kochmann, M.: Heffters Handb. exper. Pharmak. I, S. 433 (1923). — [3] Coppola, F.: Ann. Chim. e Farmacol. Vol. V della Serie 4a, S. 140 (1887). — [4] Kunkel, A.: Handb. Toxikol., S. 467, Jena 1899. — [5] Kobert, R.: Lehrb. d. Intoxikationen, S. 98, Stuttgart 1906. — [6] Wolfer, K.: Führer-Wieland: Sammlung v. Verg.-Fällen, Bd. 1, 73 (1930). — [7] Mager, E.: Ebenda, Bd. 1, 77 (1930). — [8] Zeynek, R., u. F. Haurowitz: Ebenda, Bd. 2, 57 (1931). — [9] Ingolf, K.: Ebenda, Bd. 2, 59 (1931). — [10] Reye, E.: Ebenda, Bd. 3, 149 (1932).

den Paraldehyd über die ältere Arbeit von Coppola hinaus außer an Fröschen auch an Fischen und Blutegeln vergleichend zu untersuchen, gegebenenfalls zu den beiden Polymeren des Azetaldehyds auch die dimere Verbindung des Azetaldehyds, das Aldol und das Polymerisationsprodukt des Formaldehyds, den Paraformaldehyd, heranzuziehen. Die experimentellen Ergebnisse sollten dann mit den Befunden bei Paraldehyd- und Metaldehydvergiftung am Menschen verglichen werden. So war die Möglichkeit gegeben, die Wirkung der beiden genannten Polymeren des Azetaldehyds näher kennenzulernen. Das ist nicht nur von toxikologischem Interesse, sondern auch hinsichtlich der Pharmakologie des Zentralnervensystems von Bedeutung.

Versuchsanordnung.

Die vorliegenden Versuche wurden in der Zeit von Februar bis April 1941 ausgeführt. Als Versuchstiere dienten ungarische Wasserfrösche im Gewicht von durchschnittlich 150 g, ferner Fische und zwar die Rotfeder, Leuciscus rutilus, einer Grazer zoologischen Handlung. Sie wogen etwa 1,5 g. Weiterhin wurden Blutegel verwandt, die aus einer Grazer Apotheke stammten. Die Aufbewahrung erfolgte in der üblichen Weise[11]. Der Paraldehyd, aus den Beständen des Instituts, entsprach den Forderungen des deutschen Arzneibuches (VI. Ausgabe). Den Metaldehyd lieferte die Firma Schuchardt, Görlitz, den Paraformaldehyd die Firma Kahlbaum, Berlin.

Freie Aldehydgruppen waren weder im Paraldehyd noch im Metaldehyd durch Probe mit ammoniakalischer Silberlösung und die Probe mit p-Nitrophenylhydrazin nachweisbar, wohl aber im Paraformaldehyd.

Im Gegensatz zum Paraldehyd, der bekanntlich flüssig ist, stellen Metaldehyd und Paraformaldehyd feste Körper dar, die uns in Pulverform zur Verfügung standen. Der Metaldehyd ist sehr schwer in Wasser löslich. Nach unseren Untersuchungen beträgt die Löslichkeit in destilliertem Wasser nach mehrtägigem Schütteln 1:5000. Auch in diesen Lösungen war die Aldehydprobe negativ. Etwas leichter läßt sich durch Schütteln der Paraformaldehyd in Lösung bringen. Aldol wurde zu den Versuchen selbst dargestellt nach der weiter unten angegebenen Methode.

Versuche mit Paraldehyd und Metaldehyd an Fröschen.

Der Paraldehyd wurde in einer Konzentration 1:10 in froschisotonischer Ringerlösung in den Brustlymphsack injiziert. Dosen von 4,0 g pro kg Frosch waren ohne sichtbare Wirkung, mit Dosen von 4,2 g pro kg war bereits eine leichte, etwa 50 Minuten dauernde Narkose zu erzielen, die bereits 10 Minuten nach der Injektion einsetzte. Es war eine Herabsetzung der Kneifreflexe festzustellen. 15 Minuten nach der Injektion wurde Rückenlage ertragen. Während der Gesamtdauer der Wirkung sind die Kneifreflexe herabgesetzt, aber nicht vollständig aufgehoben. Völlige Anästhesie wurde erst bei Dosen über 4,2 g pro kg beobachtet. Hier zeigte sich auch eine Herabsetzung der Atemfrequenz. Am normalen Frosch wurden 35—40 Züge der Flankenatmung festgestellt, in der Narkose 25—30 pro Minute.

[11] Führer, H.: Abderhaldens Handb., Abt. IV, Teil 7, S. 463.

Ein Exzitationsstadium war in Übereinstimmung mit den Beobachtungen Cervellos [1], a. a. O., weder bei Beginn noch beim Abklingen der Narkose zu beobachten.

Von einer größeren Reihe von Versuchen mit dem Metaldehyd sei das folgende Beispiel angeführt:

10^{30} Einem 174 g schweren Frosch werden 1 ccm einer Metaldehyd-Ringerlösung (etwa 1 : 5000) in den Brustlymphsack injiziert.

11^{30} Bisher keine Besonderheiten feststellbar.

11^{40} Starker krampfähnlicher Anfall. Wildes Anspringen der Wände der Glasglocke etwa 10mal hintereinander. Die Flankenatmung ist oberflächlich, im Rhythmus wechselnd. Beim Klopfen auf die Tischplatte fährt der Frosch zusammen, ähnlich wie bei beginnender Strychninwirkung.

12^{00} Krampfartiges wildes Anspringen der Glaswand bis zu 1 Minute lang. Reflexsteigerung. In den Pausen zwischen den Anfällen zeigt der Frosch eine abnorme Haltung: Während das eine Hinterbein an den Leib angezogen ist, wie beim normalen Tier, ist das andere weit ausgespreizt, auch ist eine vordere Extremität im rechten Winkel abgebogen.

20^{30} Der Frosch wurde den ganzen Tag über beobachtet. Die Bewegungsunruhe und gesteigerte Reflexerregbarkeit hielten unvermindert an. Kneifen einer Extremität mit der Pinzette löste, falls nicht spontan Unruhe und wildes Springen sich zeigten, diese Bewegungsanfälle aus.

Am folgenden Tag 19. Februar 1941:

8^{30} Das auf dem Teller befindliche Wasser ist in einen weißen Schaum verwandelt. Bewegungsunruhe und Reflexsteigerung sind den ganzen Tag über noch vorhanden, klingen aber gegen Abend ab.

20. Februar 1941:

10^{30} Der Frosch erscheint normal, nur zuweilen kurze Erregungsanfälle.

21. Februar 1941:

Der Frosch zeigt eine schlaffe Haltung. Vorder- und Hinterextremitäten sind nicht wie normal an den Leib gezogen, sondern abgespreizt. Der Kopf sonst leicht gehoben, liegt auf dem Teller. Der Frosch schleppt sich nur mühsam vorwärts, er kriecht oder springt. Die Sprungweite entspricht etwa nur seiner Körperlänge, während an gesunden Tieren die Sprungweite das 4- bis 6fache der Körperlänge ausmacht. Rückenlage wird nicht ertragen. Zeitweise treten kurze Erregungsanfälle auf.
Am 22., 23., 24., 25. sind die Reflexe stark herabgesetzt. Die beschriebene schlaffe Haltung wird beibehalten. Ausgesprochene Lähmung. Am 26. Februar wird das Tier tot aufgefunden. 8 Tage nach der Injektion.

Bei allen Versuchen mit dem Metaldehyd war an Fröschen wohl eine motorische Unruhe und Reflexsteigerung zu beobachten, jedoch zeigte sich in Übereinstimmung mit den Versuchen Coppolas [3], a. a. O., nie ein Tetanus. Das konnte darauf zurückzuführen sein, daß bei den hohen Verdünnungen, die angewandt werden mußten, infolge der geringen Wasserlöslichkeit des Metaldehyds nie die für einen Tetanus notwendige Konzentration im Blute erreicht wurde, obwohl Ausscheidung und Entgiftung nach unseren Versuchen offenbar sehr langsam vor sich gehen.

Um die Metaldehydkonzentration im Blute zu steigern, wurde einem Frosch eine Suspension von Metaldehyd-Ringerlösung 5 : 100, und zwar 1 ccm in den Brustlymphsack injiziert. Der Erfolg war derselbe wie nach der Injektion der Lösung.

Bei der Eingabe der Metaldehydsuspension in den Magen war eine Wirkung am Frosch nach unseren Versuchen nicht festzustellen.

Nach intravenöser Injektion von 0,1 ccm Metaldehyd-Ringerlösung in die Bauchvene zeigten sich dagegen wenige Sekunden nach der Injektion Kontraktionen aller Streckmuskeln, die 2—4 Sekunden anhielten und in Abständen von 1—10 Minuten wieder auftraten. Sie blieben 40 Stunden bestehen. Obwohl diese Krampfzustände intensiver waren als nach Injektion in den Brustlymphsack, so waren sie doch deutlich schwächer als ein Strychnintetanus.

Vergleichen wir die Paraldehyd- und Metaldehydwirkung am Frosch, so ist nach den vorliegenden Versuchen festzustellen, daß die Paraldehydwirkung schon innerhalb einer Viertelstunde eintritt, daß sie in einer Narkose besteht, die weder zu Beginn noch gegen das Ende hin ein Exzitationsstadium aufweist.

Die Metaldehydwirkung dagegen wird nach Injektion in den Brustlymphsack etwa erst 1 Stunde nach Applikation deutlich, sie besteht in einer langanhaltenden, über Tage sich erstreckenden Erregung, der eine tagelange Lähmung sich anschließt und meist den Tod der Versuchstiere.

Die wirksamen Dosen liegen für den Paraldehyd bei 4,2 g pro kg Frosch, für den Metaldehyd bei weniger als 1,0 mg pro kg. Dazu kommt noch, daß der Metaldehyd beim Frosch eine starke Giftwirkung entfaltet, die dem Paraldehyd fehlt.

Bei den Paraldehydversuchen am Frosch fiel auf, daß die Tiere, die sich in dem üblichen zylindrischen Froschglas mit etwas Leitungswasser befanden, nach anscheinend völliger Erholung aus der Narkose erneut, wenn auch schwächer als vorher, gelähmt wurden, so daß anzunehmen ist, daß ausgeschiedener Paraldehyd erneut resorbiert wird. Ein gesunder Frosch in das Wasser eines Frosches gesetzt, der gerade eine Paraldehydnarkose überstanden hatte, ließ keine Paraldehydwirkung erkennen. Hieraus darf geschlossen werden, daß der Frosch, der die Narkose überstanden hatte, gegenüber dem Paraldehyd empfindlicher ist. Das entspricht den Beobachtungen an Kaninchen bei chronischer Paraldehydvergiftung (Kunkel [12]). Es ist auch denkbar, daß im vorliegenden Fall der Paraldehyd noch nicht völlig ausgeschieden ist. Eine ähnliche rückläufige Metaldehydwirkung war unter entsprechenden Bedingungen nie festzustellen, was bei der sehr langsamen Resorption der Substanz und ihrer geringen Löslichkeit ohne weiteres verständlich ist.

---

[12] Kunkel, A.: Handb. Toxikol., S. 464, Jena 1899.

Was den Angriffsort des Paraldehyds und des Metaldehyds anbetrifft, so konnte nachgewiesen werden, daß in der Paraldehydnarkose die elektrische Reizung des Ischiadicus den normalen Erfolg hatte, und die isolierte Froschextremität in einer Metaldehydlösung keine Bewegungen aufwies. Diese Versuche zeigen, daß, wie erwartet, Paraldehyd und Metaldehyd ihren Hauptangriffsort am Zentralnervensystem haben.

Weitere Versuche sollten die Wirkung des Paraldehyds und des Metaldehyds auf das isolierte und das Froschherz in situ zeigen. Es ergab sich, daß das nach Straub isolierte Froschherz unter Anwendung einer Paraldehydlösung 1 : 25 in froschisotonischer Ringerlösung stillstand, aber selbst nach einer Einwirkungszeit von 30 Minuten durch Auswaschen zu normalem Schlagen zu veranlassen war. Erst nach Anwendung einer Paraldehydkonzentration 1 : 10 in Ringerlösung kam es zu einer irreversiblen Lähmung. Die Pulsationen des Froschherzens in situ waren auch in tiefer Paraldehydnarkose, soweit es durch einfache Beobachtung zu beurteilen war, gegenüber der Norm nicht verändert.

Metaldehyd-Ringerlösungen ließen die Funktionen des isolierten Froschherzens unbeeinflußt. Auch am Froschherzen in situ am mit Metaldehyd behandelten Frosch waren keine Besonderheiten erkennbar.

Während, wie gezeigt, die Wirkung des Paraldehyds und des Metaldehyds am Zentralnervensystem des Frosches wesentliche Unterschiede aufweist, ist die Wirkung auf das isolierte Froschherz und das Froschherz in situ bei beiden in Frage stehenden Substanzen nach den vorliegenden Versuchen ähnlich, d. h. die Wirkung ist gering bzw. überhaupt nicht festzustellen.

Die Versuche zeigten, daß am Frosch weder zu Beginn noch gegen Ende der Paraldehydnarkose ein Exzitationsstadium festzustellen war. Ferner ergeben die Untersuchungen mit Metaldehyd, daß ausgesprochene Krämpfe durch diese Substanz am Frosch sich nicht hervorrufen ließen.

Weitere Versuche sollten zeigen, ob vielleicht an Fischen mit Paraldehyd ein Exzitationsstadium zu erzielen ist, und ob nach Metaldehyd an diesen Tieren Krämpfe auftreten. Gerade die einfache Beurteilung der motorischen Erregung und Lähmung am Fisch ließen diese Tiere für die vorliegenden Versuche besonders geeignet erscheinen, vgl. auch Blume [13].

Versuche mit Paraldehyd und Metaldehyd an Fischen.

An Rotfedern, Leuciscus rutilis, war in Paraldehyd-Leitungswasser 1 : 1000 ebenso wie in schwächeren Konzentrationen bei 18° Wassertemperatur keine deutliche Wirkung festzustellen. Lösungen von 1,5‰

[13] Blume, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **149**, 187 (1930).

und höher waren dagegen sehr ausgesprochen wirksam. Als Beispiel sei aus einer größeren Reihe der folgende Versuch geschildert:

10^{45} wird eine Rotfeder in eine Paraldehydlösung mit Leitungswasser 3 : 1000 gesetzt. Temperatur des Wassers 18°.

10^{51} Taumeln.

10^{53} Seitenlage angedeutet.

10^{56} Fisch schwimmt in normaler Haltung sehr aufgeregt im Glase herum, dreht sich um die Längsachse. Schießt an die Oberfläche des Wassers, sinkt dann auf den Grund, bleibt dann bewegungslos.

11^{15} Die Unruhe, die bis jetzt angehalten, wird geringer.

11^{20} Der Fisch liegt in Seitenlage am Boden des Glases und zeigt nur geringe Bewegungen. Die Zahl der Kiemenbewegungen ist von 60 während des Erregungsstadiums auf 30—40 pro Minute gesunken. Am normalen Fisch wurden 90 Kiemenbewegungen pro Minute beobachtet.

11^{28} Bei geringfügigen Bewegungen dreht sich der Fisch um seine Längsachse.

11^{34} Der Fisch zeigt 10 Minuten lang keine Bewegungen. Er wird in frisches Leitungswasser gesetzt.

11^{36} Leicht taumelnde Bewegungen sind festzustellen.

11^{41} Normale Lage. Der Fisch ist vom Kontrolltier nicht mehr zu unterscheiden.

Während des ganzen Tages sind gegenüber dem normalen Fisch keine Besonderheiten festzustellen.

Im Gegensatz zu den Beobachtungen an Fröschen zeigt sich bei Fischen vor dem Eintritt der Paraldehydnarkose ein deutliches Exzitationsstadium, das aber bei abklingender Narkose nicht wieder auftrat. Auffallend war die rasche Erholung aus der Narkose.

Von den Versuchen mit Metaldehyd an Fischen sei von einer größeren Zahl der folgende als Beispiel geschildert:

17. März 1941. Wassertemperatur 18°:

9^{00} Eine Rotfeder von etwa 1,5 g Gewicht wird in eine klare Metaldehyd-Leitungswasserlösung (1 : 5000) gesetzt.
Gleichzeitig wird ein Kontrollfisch in reinem Leitungswasser beobachtet.

9^{05} Wilde Schwimmbewegungen. Fisch schießt im Wasser hin und her. Reflexsteigerung beim Klopfen auf den Tisch deutlich. Kurzdauernde Zuckungen. Die Flossenbewegungen sind gegenüber der Kontrolle zitternd.

9^{15} Zunehmende Unruhe, wie geschildert, dazwischen Ruhepausen von etwa 1 Minute Dauer.

9^{30} Lebhafte Zuckungen, sonst wie vorher, zuweilen Seitenlage, die aber korrigiert wird.

10^{00} Krampfartige Zuckungen. Beim Klopfen auf den Tisch schießt der Fisch durch das Wasser, stößt mit dem Kopf gegen die Wand des Gefäßes, zuweilen schießt er über die Wasseroberfläche hinaus. Die Zahl der Kiemenbewegungen ist gegenüber der Norm verdoppelt.

12^{00} Wie vorher. Die krampfartigen Zuckungen sind besonders deutlich, wenn der Fisch aus der Seiten- die Normallage zu gewinnen versucht.

15^{00} Die Seitenlage überwiegt, anhaltende Zuckungen und Unruhe. Dieser Zustand mit starker Reflexsteigerung beim Klopfen auf den Tisch hält den ganzen Tag über an.

21^{00} Wildes Hin- und Herschießen durch das Wasser. Der Fisch schnellt mitunter über die Wasseroberfläche hinaus.

18. März 1941:

Von 6^{00} bis 11^{00} früh anhaltende Zuckungen, von 11^{00} ab nur noch Zuckungen im Gebiet des Kopfes, um 12^{30} tritt der Tod ein.

Die vorliegenden Versuche mit Metaldehyd an Fischen zeigen, daß bei diesen Tieren die erregende Wirkung des Metaldehyds viel stärker zum Ausdruck kommt als an Fröschen. Aber an Fischen wird, wie an Fröschen, die weit größere Giftwirkung des Metaldehyds gegenüber dem Paraldehyd deutlich. Die Metaldehydkrämpfe an Fischen können nur vollständig zurückgehen, wenn die Tiere in frisches Wasser umgesetzt werden, solange noch nicht Seitenlage festzustellen ist. Ist Seitenlage eingetreten, so erfolgt im frischen Leitungswasser keine oder nur vorübergehende Erholung. Der Tod tritt dann oft erst nach Tagen ein.

Die bedeutende Giftigkeit des Metaldehyds an Fischen zeigt sich besonders, wenn man 0,1 ccm der gesättigten Lösung den Tieren injiziert. Die Krämpfe scheinen intensiver als nach dem Einsetzen in die Metaldehydlösung. Die Wirkung hält tagelang an, führt aber in nahezu allen Fällen zum Tode. Sind die Tiere unter Metaldehydwirkung ruhig geworden, so läßt sich durch Berührung mit dem Glasstab ein plötzlicher Krampf auslösen.

Wird die Metaldehydlösung auf das Doppelte verdünnt und die Fische dann eingesetzt, so sind Krampferscheinungen nur angedeutet oder gar nicht festzustellen. An größeren, etwa 5,0 g schweren Fischen sind auch in der konzentrierten Metaldehydlösung die Krämpfe nicht so deutlich wie an den kleinen, 1,5 g schweren Rotfedern nach unseren Erfahrungen.

Von Bedeutung für das Auftreten der Metaldehydkrämpfe ist die Wassertemperatur. Bei Temperaturen unter 18^0 sind die Krämpfe nicht sehr ausgesprochen.

Da dem Metaldehyd an Fischen eine stark erregende Wirkung zukommt, lag es nahe, festzustellen, ob und wieweit eine Paraldehydnarkose an Rotfedern mit Hilfe des Metaldehyds aufzuheben ist. Zur Lösung dieser Frage wurden eine Reihe von Versuchen angestellt, die ähnlich dem nunmehr zu schildernden verliefen:

17. März 1941. Wassertemperatur 18^0:

14^{15} Zwei kleine Rotfedern von je 1,5 g werden in eine $2\,^0/_{00}$ige Paraldehyd-Leitungswasserlösung gesetzt.

15^{15} Das Exzitationsstadium ist vorüber, beide Fische liegen in Seitenlage am Boden des Gefäßes und werden dort belassen bis 16^{45}.

16^{45} Einer der beiden Fische kommt in eine Metaldehydlösung, welche dieselbe Konzentration von Paraldehyd enthält wie die erste Lösung, also $2\,^0{}_{00}$. Der andere Fisch bleibt in der Paraldehydlösung. Sofort nach dem Einsetzen in die Metaldehyd-Paraldehydlösung zeigt der Fisch, der $1^1{}_2$ Stunde in tiefer Narkose gelegen hatte, lebhafte Schwimmbewegungen. Die Seitenlage geht in Schräglage über und 5 Minuten nach dem Umsetzen ist die normale Lage erreicht.

16^{50} Normale Lage mit lebhaften krampfartigen Zuckungen. Beim Klopfen auf den Tisch schießt der Fisch mit wildem Sprung durchs Wasser zuweilen über die Wasseroberfläche hinaus.

17^{45} Erregung, Unruhe, Reflexsteigerung wie vorher. Der andere Fisch in der Paraldehydlösung liegt in tiefer Narkose in Seitenlage auf dem Boden des Gefäßes.

18^{15} Wie vorher.

18^{45} Die Erregung hat nachgelassen. Der Fisch bleibt zuweilen minutenlang ruhig an einer Stelle. Reflexsteigerung wie 17^{45} und 18^{15}.

19^{45} Derselbe Befund wie 18^{45}.

Am folgenden Tag:

6^{15} Der Fisch in reiner $2\,^0/_{00}$iger Paraldehydlösung wird tot aufgefunden. Die Rotfeder in Metaldehyd-Paraldehydlösung ist noch immer in ständiger Bewegung. Nach größeren und kleineren Intervallen krampfartige Zuckungen wechselnder Intensität. Reflexsteigerung noch deutlich.

9^{45} Die charakteristischen Metaldehydzuckungen halten an. Bisher keine Seitenlage. Diese tritt erst etwa 3 Stunden vor dem Tod ein, der um 19^{45} erfolgt.

Dieser Versuch, wie eine Reihe ähnlicher zeigt, daß selbst eine tiefe Paraldehydnarkose an Fischen mit Hilfe des Metaldehyds aufhebbar ist. Die stark toxische Wirkung des Metaldehyds führt jedoch meist zum Tode der Versuchstiere.

Versuche mit Paraformaldehyd und Aldol an Fischen.

Da Erregungs- und Lähmungszustände an Fischen gut überblickbar sind, wurden auch eine Reihe von Versuchen mit einem Polymerisationsprodukt des Formaldehyds, dem Paraformaldehyd (Kahlbaum), angestellt. Der Paraformaldehyd unterscheidet sich von den beiden Polymerisationsprodukten des Azetaldehyds, dem Paraldehyd und dem Metaldehyd, dadurch, daß er nicht wie die beiden Polymeren des Azetaldehyds ein einheitlicher Körper ist, sondern ein Gemisch von Polyoxymethylen (Karrer[14]) darstellt, das freie Aldehydgruppen enthält, wie wir uns durch entsprechende Proben, s. oben, überzeugen konnten.

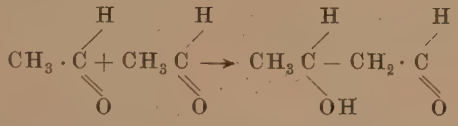
Es wurden folgende Konzentrationen von Paraformaldehyd in Leitungswasser angewandt: 1 : 500, 1 : 1000, 1 : 5000, 1 : 10000, 1 : 50000. Bis zu einer Konzentration 1 : 10000 war eine deutliche Wirkung erkennbar, während eine Lösung 1 : 50000 wirkungslos blieb.

Sofort nach dem Einsetzen in die Paraformaldehydlösung waren starke Unruhe und Reflexsteigerung, jedoch keine Krämpfe zu beobachten. Anschließend, je nach Höhe der angewandten Konzentration nach 10 bis 15 Minuten, hörte die Unruhe auf. Der Fisch blieb ruhig, nur anfallsweise zeigten sich heftige Bewegungen, später Seitenlage und Tod. Bei Lösungen 1 : 500 und 1 : 1000 trat der Tod schon 20 Minuten bis eine halbe Stunde nach dem Einsetzen ein. Eine Erholung ist nur möglich in den ersten

[14] Karrer, P.: Lehrb. d. Organ. Chemie, S. 166. Leipzig 1939. 6. Auflage.

Stadien der Vergiftung, bevor sich die Tiere beruhigt haben, bei Konzentrationen von 1 : 5000 z. B., also 10 bis höchstens 15 Minuten nach dem Einsetzen in die Paraformaldehydlösung.

Eine Narkose war also mit dem Paraformaldehyd ebensowenig hervorzurufen wie mit dem Metaldehyd. Außer diesen Polymeren des Azetaldehyds und Formaldehyds wurden noch eine Reihe von Versuchen mit dem Dimeren Azetaldehyd, dem Aldol, durchgeführt. Aldol stellt ein Kondensationsprodukt aus 2 Molekülen Azetaldehyd dar mit offener Kette und Kohlenstoff-Kohlenstoffbindung,



im Gegensatz zu den Ringformeln des Paraldehyds und des Metaldehyds, bei denen eine Kohlenstoff-Sauerstoffbindung vorliegt. Das Aldol wurde nach Grignard dargestellt[15].

Man bringt in einen Kolben von 1500 ccm Fassungsvermögen je 200 g Äther und Azetaldehyd, welche zuvor auf 0° abgekühlt worden sind, und versetzt das Gemisch unter fortwährendem kräftigem Schütteln nach und nach mit 75—80 ccm kalter etwa 15%iger Natriumsulfitlösung unter Vermeidung einer Temperatursteigerung über 10°. Nach beendigtem Sulfitzusatz läßt man die Temperatur zunächst auf 25—28° steigen, hält sie dort 5—10 Minuten lang, und steigert sie schließlich auf 30—32°, ohne das Schütteln zu unterbrechen, womit die Kondensation beendigt ist. Man trennt die wässerige Schicht ab, schüttelt sie mit dem gleichen Volumen Äther aus, wäscht die vereinigten ätherischen Flüssigkeiten mit etwas gesättigter Natriumbicarbonatlösung, trocknet sie über Calciumchlorid und destilliert den Äther bei einer 60° nicht übersteigenden Temperatur ab. Ausbeute 48—50%.

Das Aldol stellt eine farb- und geruchlose ölige Flüssigkeit dar vom spezifischen Gewicht von 1,109 bei 16°.

Die Wirkung des Aldols an Rotfedern entspricht etwa der des Paraformaldehyds. Es zeigen sich sofort nach dem Einsetzen in eine Lösung 1 : 500 starke Unruhe und Reflexsteigerung, später Seitenlage, die von Zeit zu Zeit von heftigen Krämpfen unterbrochen wird. Erholung ist nur möglich, wenn die Fische zu Beginn der Wirkung in frisches Wasser umgesetzt werden. Ist Seitenlage eingetreten, erfolgt keine Erholung mehr. Eine deutliche Wirkung ist noch bei einer Konzentration 1 : 10000 und 1 : 20000 bei einer Wassertemperatur von 18° festzustellen.

Versuche mit Paraldehyd und Metaldehyd an Blutegeln.

Setzt man einen Blutegel in eine 1%ige Paraldehydlösung, so werden die Tiere sofort unruhig und verlieren die Fähigkeit, sich an der Glaswand festzusaugen. Sie bewegen sich, anhaltend schlängelnd, durch das Wasser.

[15] Grignard: Handb. organ. Chemie v. Beistein, Bd. 1, S. 824, Berlin 1918, 4. Auflage.

Über das ganze Tier laufen Kontraktionswellen der Muskulatur von hinten nach vorn. 5 Minuten nach dem Einsetzen lassen die Bewegungen nach. 10—15 Minuten nach dem Einsetzen liegen die Tiere meist eigentümlich gekrümmt am Boden des Gefäßes. Läßt man die Tiere in diesem Stadium, so kann man vereinzelte langsame Bewegungen beobachten. Nach einer Narkose von 20 Minuten werden die Tiere in frisches Brunnenwasser gesetzt, Erholung und Wiederkehr der Saugfähigkeit erfolgen schon nach 5—10 Minuten. Später ist auch keine Spur einer Nachwirkung festzustellen.

Im Gegensatz zur Paraldehydwirkung steht die des Metaldehyds. Ein Blutegel in eine Metaldehydlösung gebracht, verliert seine Saugfähigkeit nicht, auch nicht nach längerer Einwirkung der Lösung. Das Tier wird sofort unruhig und sucht rasch einen Ausweg aus der Flüssigkeit und dem Gefäß. Dem Vorgang von Labes[16] entsprechend wurden daher die Blutegel in einen mit einem Stopfen verschlossenen Meßzylinder von 500 ccm gebracht, der bis auf einen kleinen Luftraum mit Metaldehydlösung gefüllt war und horizontal gelagert wurde. So blieben die Tiere dauernd der Metaldehydlösung ausgesetzt. Heftige Bewegungen halten stundenlang an, peristaltische Wellen laufen während der ersten 2—4 Stunden dauernd über den Körper. Sie werden seltener, die Kontraktionen bleiben dann örtlich begrenzt, so daß z. B. zu gleicher Zeit am selben Tier in Abständen von einigen Millimetern 15 Kontraktionsringe sichtbar sind, deren Durchmesser etwa die Hälfte des Normaldurchmessers des Tieres beträgt. Sie bleiben minutenlang so stehen und treten immer wieder auf. In frischem Brunnenwasser erholen sich die Tiere sehr langsam.

Der Paraldehyd ruft am Blutegel ein Exzitationsstadium hervor, er hebt von Anfang an die Saugfähigkeit auf und führt zu voller Narkose, die in kurzer Zeit, 5—10 Minuten, nach Verbringen in reines Brunnenwasser zu beheben ist. Es erfolgt völlige Wiederherstellung.

Durch den Metaldehyd ist eine Narkose am Blutegel nicht hervorzurufen, wohl zeigen sich langdauernde Zeichen heftiger Erregung. Die Saugfähigkeit erlischt unter der Metaldehydwirkung nicht. Charakteristisch sind nach längerer Einwirkung des Metaldehyds auftretende Kontraktionsringe, die in größerer Zahl gleichzeitig minutenlang bestehen bleiben und sich immer wieder bilden. Nach Verbringen in frisches Wasser erfolgt die Erholung von der Metaldehydwirkung viel langsamer als von der des Paraldehyds.

Auf den nach Führer[17] isolierten Muskelschlauch des Blutegels war weder mit Hilfe des Paraldehyds noch des Metaldehyds eine Wirkung festzustellen. Ebenso gelang es nicht mit Paraformaldehyd und Aldol. Die Versuche wurden daher am Zentrenpräparat des Blutegels weitergeführt.

---

[16] Labes, R.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **152**, 118 (1930). — [17] Führer, H.: Ebenda **82**, 53 (1918.

Versuche mit Paraldehyd, Metaldehyd, Paraformaldehyd und Aldol am Zentrenpräparat des Blutegels.

In Anlehnung an die Angaben von Führer[18] und von Labes[16], a. a. O., erfolgte die Herstellung der Zentrenpräparate:

Nachdem vom Blutegel Kopf- und Schwanzstück mittels einer Schere abgeschnitten waren, wurde der Egel so geteilt, daß jedes Teilstück aus etwa 30 Ringen bestand. Ein derartiges Stück wurde mit 4 Nadeln auf einer Korkplatte ausgebreitet fixiert, durch die beiden helleren Seitenlinien je ein Schnitt mit einer Schere geführt und der Rückenstreifen unter größter Schonung des Bauchmarkes abpräpariert. Mittels je eines durch beide Enden gezogenen Fadens erfolgte die Aufhängung des Präparates zwischen einem hakenförmig gebogenen Glasrohr, das in eine kleine Kapillare auslief, aus der der zugeleitete Sauerstoff austrat und dem Angriffsarm eines Aluminiumschreibhebels. Der Angriffsarm des Schreibhebels war 2, der Schreibarm 10 cm lang. Der Schreibhebel wurde mit einem 10 g Gewicht belastet, das bis zu etwa 2,5 cm vom Drehpunkt des Hebels entfernt war. Die Belastung wechselte entsprechend der individuellen Verschiedenheit der einzelnen Präparate. Das so aufgehängte Zentrenpräparat kam in ein Gefäß mit rund 150 ccm Frosch-Ringerlösung. Nach 45—60 Minuten arbeitete der Streifen hinreichend regelmäßig, so daß nun die Wirkung der verschiedenen Substanzen auf das Präparat studiert werden konnte.

Mit dem Paraldehyd ist am Zentrenpräparat eine deutliche Wirkung bei einer Konzentration 1 : 500 zu erreichen, während Paraldehydlösungen 1 : 1000 nicht regelmäßig wirksam sind. Die Wirkung des Paraldehyds setzt sofort ein, führt meist zu einer kurzen Erregung, Zunahme des Tonus, der Amplitude und der Frequenz der Kontraktionen, der sich eine Tonusabnahme und eine Abnahme der Amplitude und der Frequenz der Kontraktionen anschließen. Bei einer Konzentration der Paraldehydlösung 1 : 500 entwickelt sich die Lähmung allmählich, bei einer Konzentration 1 : 100 sehr rasch. Nach der Anwendung der Paraldehydlösung 1 : 100 ist die Wirkung innerhalb von etwa 20 Minuten nach dem Einsetzen durch Auswaschen mit Ringerlösung rückgängig zu machen, später wird sie irreversibel. Eine Erregung beim Auswaschen mit Ringerlösung im Anschluß an die lähmende Paraldehydwirkung war nicht regelmäßig zu beobachten.

Gegenüber dem Paraldehyd, dem eine im allgemeinen lähmende Wirkung am Zentrenpräparat des Blutegels zukommt, entfaltet der Metaldehyd eine ausgesprochene erregende Wirkung. Sie ist grundsätzlich von der des Paraldehyds verschieden. Nach dem Einsetzen in Metaldehyd erfolgt eine geringe Zunahme der Frequenz der Kontraktionen, an die sich eine Erhöhung der Amplitude und des Tonus anschließen. Amplitude und Tonus nehmen im weiteren Verlauf etwas ab, aber die Frequenz der Kontraktionen erhöht sich. Nach Einsetzen des Präparates in Ringerlösung scheint es wie abgestorben. Der Tonus läßt erheblich nach, es erfolgen seltenere und sehr kleine Kontraktionen. Erneutes Einsetzen in die Met-

[18] Führer, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. 82, 215 (1917).

aldehydlösung führt zu einer erneuten Wirkung mit ähnlichem Verlauf wie dem geschilderten. Die Metaldehydzuckungen sind namentlich durch die anhaltende deutlich erhöhte Frequenz charakterisiert.

Die sehr intensive Wirkung des Metaldehyds zeigt sich vor allem deutlich, wenn das Zentrenpräparat durch Paraldehyd vorher gelähmt ist.

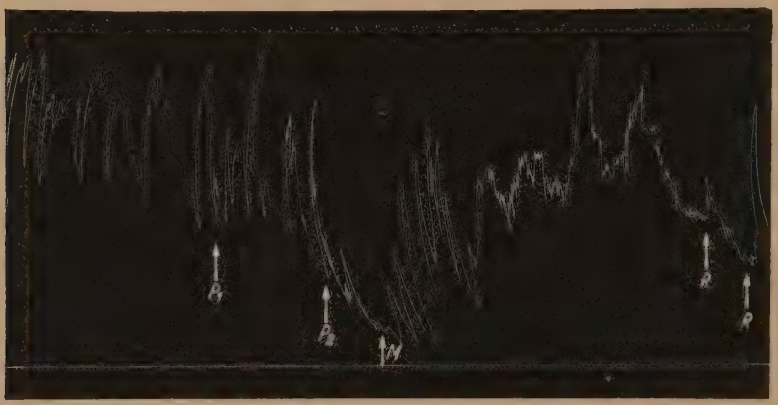


Abb. 1. P_1 = Paraldehyd 1 : 500. P_2 = Paraldehyd 1 : 100. M = Metaldehyd. R = Ringer-lösung. Zeitschreibung: Minuten.

In der Abb. 1 ist die Paraldehyd- und die Metaldehydwirkung am selben Präparat nacheinander veranschaulicht. Nach Paraldehyd 1 : 500 sinkt nach kurzer Erregung, Zunahme der Amplitude, des Tonus und der Frequenz der Kontraktionen, der Tonus, er sinkt noch weiter, als die Lösung 1 : 500 gegen eine solche 1 : 100 Paraldehyd-Ringer umgewechselt wird. Mit dem Umsetzen des Präparates in Metaldehyd werden die Kontraktionen ihrer

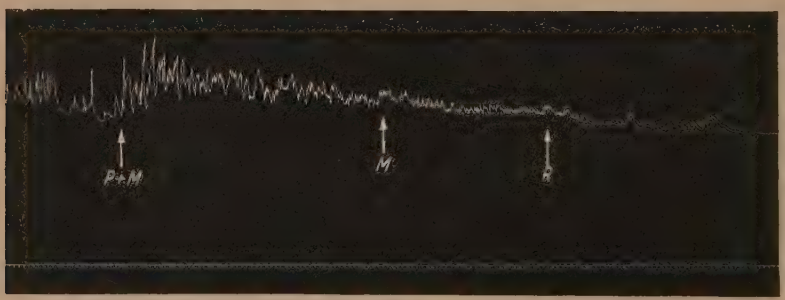


Abb. 2. $P + M$ = Paraldehyd 1 : 500 + Metaldehyd. M = Metaldehyd. R = Ringerlösung. Zeitschreibung: Minuten.

Amplitude und dem Tonus nach annähernd normal, und schließlich erfolgen mit weiter steigendem Tonus die sehr frequenten charakteristischen Metaldehydzuckungen.

Verbringt man ein normales Zentrenpräparat in eine Metaldehydlösung, die auch Paraldehyd 1 : 500 enthält, so erfolgt die charakteristische Metaldehydwirkung. Ein derartiger Versuch ist in Abb. 2 veranschaulicht.

Auch hier bleibt der Tonus bei der Einwirkung des Paraldehyd-Metaldehydgemisches erhöht. Wenn überhaupt von einem Einfluß des Paraldehyds in dem Gemisch die Rede sein kann, dann nur insofern, als die Metaldehydwirkung, entgegen der Erwartung, rascher auftritt, als es der Fall ist, wenn Metaldehyd allein auf das Präparat wirkt. Die Kurve Abb. 2 zeigt auch, daß nach der Paraldehyd-Metaldehydwirkung eine Metaldehydlösung allein zu keiner Steigerung der Wirkung führt. Und die Wirkung der reinen Ringerlösung läßt klar die hohe Toxizität des Metaldehyds erkennen, da keine Erholung erfolgt.

Wie an den Fischen wurde auch am Zentrenpräparat des Blutegels neben den beiden polymeren Formen des Azetaldehyds, das Polymerisationsprodukt des Formaldehyds, der Paraformaldehyd, und der dimere Azetaldehyd, das Aldol, untersucht. Hierüber soll im folgenden berichtet werden:

Unter der Paraformaldehydwirkung 1 : 10000 kommt es sofort zu einer Steigerung der Frequenz der Kontraktionen, nach etwa 3 Minuten zu einer Erhöhung der Amplitude und einem bedeutenden Tonusanstieg, der allmählich nachläßt. In Ringerlösung sinkt der Tonus weiter ab. Paraformaldehyd 1 : 1000 führt zu einer sehr starken Kontraktion mit nachfolgender Erschlaffung, die 15 Minuten nach Beginn der Wirkung irreversibel ist. Ähnliche Wirkungen wie mit einer Paraformaldehydkonzentration 1 : 10000 sind auch mit einer solchen von 1 : 50000 zu erzielen. Die Wirkung setzt bei 1 : 50000 erst später ein, als nach Anwendung einer Lösung 1 : 10000. Paraformaldehydlösungen 1 : 100000 entfalten keine sichtbare Wirkung. Die Wirkungen von Paraformaldehydlösungen 1 : 50000 sind noch nach über 2 Stunden reversibel.

Es liegt nahe, anzunehmen, daß wir es bei der Wirkung des Paraformaldehyds auch mit freiem Formaldehyd zu tun haben, so wurde auch der Formaldehyd untersucht. Es fand eine im Institut vorhandene 40%ige Formaldehydlösung nach entsprechender Verdünnung Verwendung. Lösungen von 1 : 50000 entfalten am Zentrenpräparat eine Wirkung, die in ihrem gesamten Verlauf der des Paraformaldehyds der Konzentration 1 : 50000 entspricht. Da das Molekül des Paraformaldehyds jedoch erheblich größer ist, ist die Wirkung des Paraformaldehyds als bedeutend stärker anzusehen als die des Formaldehyds.

Für die Wirkung des Aldols ist charakteristisch eine vorübergehende Erhöhung der Frequenz der Kontraktionen mit einem Tonusanstieg und bei Abnahme des Tonus von Zeit zu Zeit auftretende Einzelkontraktionen mit hoher Amplitude. Die eben noch wirksamen Konzentrationen von Aldol liegen bei 1 : 10000.

Dem Paraldehyd kommt ebenso wie dem Paraformaldehyd, dem Formaldehyd und dem Aldol nach einer anfänglichen kurzen erregenden, eine lähmende Wirkung zu, während der Metaldehyd eine ausgesprochet, anhaltende Erregung des Zentrenpräparates hervorruft. Wie geschildern

sind die Paraldehyd-Paraformaldehyd- und die Aldolwirkung ihrerseits durch charakteristische Züge voneinander abzugrenzen. Im folgenden wurde versucht, die Wirkungen der genannten Substanzen am selben Präparat nacheinander zur Darstellung zu bringen. Die Abb. 3 zeigt zuerst die Aldolwirkung entsprechend der obigen Beschreibung, anschließend die charakteristische Metaldehydwirkung, die auch anhält, als das Metaldehyd durch Paraldehyd ersetzt wird, und der Tonus unter Paraldehyd bedeutend abnimmt. Weiter die Wirkung des Paraformaldehyds. Unter Ringerlösung treten keine Kontraktionen mehr auf, wohl aber gelingt es, durch eine Lösung von Paraldehyd 1 : 500 in Metaldehyd einen Tonusanstieg hervorzurufen mit den angedeuteten Metaldehydzuckungen.

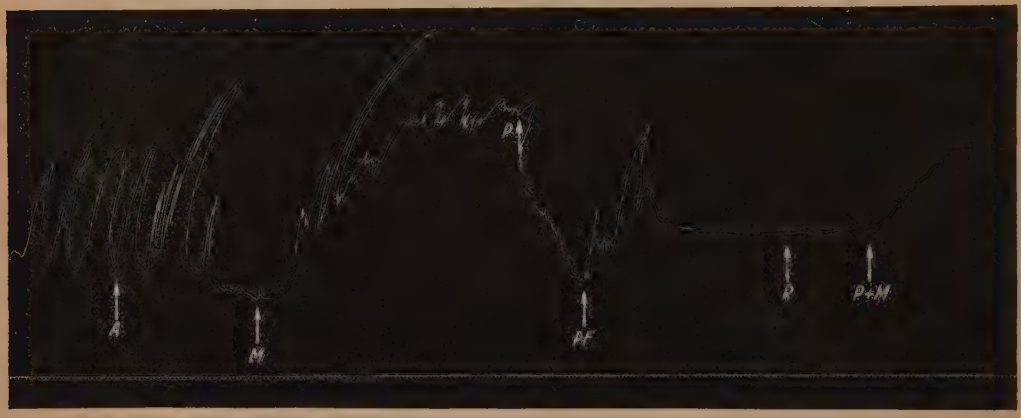


Abb. 3. A = Aldol 1 : 1000. M = Metaldehyd. P = Paraldehyd 1 : 250. PF = Paraformaldehyd 1 : 10000. R = Ringerlösung. $P + M$ = Paraldehyd 1 : 500 + Metaldehyd. Zeitschreibung: Minuten.

Das Exzitationsstadium, das unter der Paraldehydwirkung an Fischen, an Blutegeln und am Zentrenpräparat beobachtet wurde, ebenso wie die erregende Wirkung, die nach unseren Untersuchungen an denselben Objekten durch Metaldehyd, Paraformaldehyd und Aldol festzustellen war, legt die Vermutung nahe, daß beim Zustandekommen der Erregung eine örtliche Reizwirkung der Substanzen im Spiele ist. Es ist bekannt, daß dem Paraldehyd eine örtliche Reizwirkung zukommt, wir wissen auch, daß diese bei allen reduzierenden Substanzen wie den Aldehyden sehr ausgesprochen ist, also wohl auch beim Paraformaldehyd und beim Aldol, die beide freie Aldehydgruppen enthalten. Wir prüften daher alle untersuchten Substanzen auf ihre Reizwirkung an der Bindehaut des Kaninchenauges. Es zeigte sich, daß der Metaldehyd in den verwandten Lösungen keine Wirkung hervorrief, auch nicht in Substanz in den Bindehautsack gebracht. Das Aldol war bis zu einer Konzentration 1 : 500, der Paraldehyd und der Paraformaldehyd bis zu einer Konzentration 1 : 1000 und der Formaldehyd bis zu 1 : 10000 deutlich wirksam. Sie riefen Hyperämie und

Reizerscheinungen hervor. Am menschlichen Auge fand Rikl[19] unter Führer für Paraldehyd eine Grenzkonzentration von 1 : 500 wirksam. Unter der Voraussetzung, daß die Empfindlichkeit der Kaninchenbindehaut der der angewandten Versuchsobjekte entspricht, darf angenommen werden, daß eine örtliche Reizwirkung beim Zustandekommen der Metaldehyderregung nicht in Betracht kommt. Wohl aber ist die Möglichkeit beim Paraldehyd gegeben, da alle wirksamen Konzentrationen dieser Substanz auch eine örtliche Reizwirkung hervorrufen. Vor allem scheint das beim Blutegel und beim Zentrenpräparat des Blutegels der Fall zu sein, da die erregende Wirkung sofort einsetzt. Nicht sicher ist es dagegen an Fischen festzustellen, denn das Exzitationsstadium ist erst etwa 10 bis 15 Minuten nach dem Einsetzen, wenn schon Zeichen der Narkose sich geltend machen, deutlich zu beobachten. Besonders bemerkenswert ist die Tatsache, daß gegenüber dem Paraldehyd beim Aldol, beim Paraformaldehyd und beim Formaldehyd, also bei den Substanzen, die freie Aldehydgruppen enthalten, die zentralerregende Wirkung rein zu beobachten ist, denn die Konzentrationen, denen eine örtliche Wirkung zukommt, liegen in einem anderen Bereich. Die Grenzkonzentrationen für die örtliche Wirkung am Kaninchenauge ist für Aldol 1 : 500, für Paraformaldehyd 1 : 1000, für Formaldehyd 1 : 10000. Die Grenzkonzentrationen für die zentralerregende Wirkung liegen für Aldol am Fisch bei 1 : 20000, am Zentrenpräparat bei 1 : 10000, für Paraformaldehyd am Fisch bei 1 : 10000, am Zentrenpräparat bei 1 : 50000 und für Formaldehyd am Zentrenpräparat bei 1 : 50000. Damit ist nicht gesagt, daß die freien Aldehydgruppen der genannten Substanzen für ihre Wirkung bedeutungslos sind.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Die vorliegenden Versuche zeigen, daß dem Paraldehyd an Fröschen eine ausschließlich lähmende Wirkung zukommt, während an Fischen, an Blutegeln und am Zentrenpräparat des Blutegels der lähmenden Wirkung eine ausgesprochene Erregung vorangeht. Dem entspricht auch die Tatsache, daß am Menschen Paraldehyd zuweilen überhaupt keine schlafmachende Wirkung hervorbringt. Nach Tappeiner[20] tritt oft nur das Aufregungsstadium in die Erscheinung, und in demselben Sinne macht Schmiedeberg[21] darauf aufmerksam, daß, wenn Gaben von 3,0—4,0 g Paraldehyd keinen Schlaf herbeiführen, es in der Regel größere auch nicht tun. Hinsichtlich des Exzitationsstadiums erinnert die Paraldehydwirkung an die des Äthylalkohols. Auch dem Äthylalkohol kommt, wie dem Paraldehyd an Fröschen, eine ausschließlich lähmende Wirkung zu

---

[19] Rikl, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **133**, 195 (1928). — [20] Tappeiner, H. v.: Lehrb. d. Arzneimittellehre, S. 203, Leipzig 1908, 7. Aufl. — [21] Schmiedeberg, O.: Grundr. d. Arzneimittellehre, S. 30, Leipzig 1888, 2. Aufl.

(Harnack und Wittkowski[22]), während an Fischen, wie Führer[23] fand, der lähmenden Wirkung eine erregende vorausgeht.

Wie gezeigt wurde, geht mit der zentralerregenden Wirkung des Paraldehyds offenbar eine örtliche Reizwirkung einher, wie sie in denselben Konzentrationen an der Bindehaut des Kaninchens sichtbar gemacht werden kann. Es ist jedoch unwahrscheinlich, daß die lokale Reizwirkung allein die Exzitation bedingt, da das Erregungsstadium an Fischen erst nach einiger Zeit einsetzt, wenn schon deutlich resorptive Wirkungen zu erkennen sind. Auch die Erfahrungen am Menschen entsprechen diesen Vorstellungen. Nach den vorliegenden Versuchen scheint am Blutegel die örtliche Reizwirkung des Paraldehyds für das Zustandekommen der Exzitation die größte Rolle zu spielen. Aber auch hier ist nicht mit Sicherheit zu entscheiden, wie weit eine unmittelbare Erregung des Zentralnervensystems beteiligt ist.

Die Paraldehydwirkung tritt rasch ein und geht rasch vorüber, was durch die rasche Resorption und Ausscheidung der Substanz zu erklären ist. Das zeigen die vorliegenden Tierversuche und die Erfahrungen am Menschen. Damit steht auch die geringe Giftigkeit des Paraldehyds am Menschen in Zusammenhang. So wurden nach Bumke[24] noch 30,0—60,0 g vertragen, nach Starlinger[25] sogar 150,0 g.

Völlig anders verhält sich dagegen der Metaldehyd. Es ist oben gezeigt worden, daß die Metaldehydwirkung beim Frosch nicht sofort einsetzt. Dasselbe ist auch beim Menschen der Fall. Beim Frosch dauert es etwa 1 Stunde, bis nach Injektion in den Brustlymphsack die Wirkung des Metaldehyds zu beobachten ist. Beim Menschen nach Einnahme per os nach den in der Literatur geschilderten Vergiftungsfällen 2—12 Stunden. In unseren Versuchen an Fischen und am Blutegel wurde dagegen gezeigt, daß die Metaldehydwirkung an diesen Tieren sofort eintritt. Der Unterschied beruht auf der verschiedenen Resorptionsgeschwindigkeit: Die Kiemen der Fische und die Haut der Blutegel resorbieren den Metaldehyd rascher als der Brustlymphsack des Frosches oder der Magen-Darmkanal des Menschen. Injiziert man, wie oben geschildert, beim Frosch eine Metaldehydlösung intravenös, so tritt auch hier die Wirkung sofort ein.

Bei allen Versuchstieren, Wirbeltieren und Wirbellosen, wurden ebenso wie beim Menschen, unter der Metaldehydwirkung motorische Unruhe, Reflexsteigerung und Krämpfe beobachtet. Beim Menschen zeigten sich Tetanus, Trismus und Opisthotonus und epileptiforme Anfälle, verbunden mit Singultus (Mager[7], a. a. O.) und Einziehung des Unterleibes (Wolfer[6], a. a. O.). Auch das Auftreten von Erbrechen, das in allen in der Literatur

---

[22] Harnack u. Wittkowski: Zitiert nach Führer[23]. — [23] Führer, H.: Verh. dtsch. pharmak. Ges., 6. Tagung, Düsseldorf 1926, S. 23. — [24] Bumke: Münch. med. Wschr. **1902**, Nr. 47, S. 1958; zitiert nach Meyer-Gottlieb: Exper. Pharmak., S. 103 (1933), 8. Aufl. — [25] Starlinger, F.: Z. exper. Med. **59**, 422 (1928).

geschilderten Vergiftungsfällen beobachtet wurde, ist wohl zentral bedingt, kann jedoch auch reflektorisch ausgelöst sein, da z. B. in dem Fall von Wolfer[6] eine hämorrhagische Gastritis festzustellen war. Es ist nicht ausgeschlossen, daß die im Handel befindlichen Metatabletten, die bei allen Vergiftungsfällen beim Menschen eingenommen wurden, neben dem Metaldehyd auch Azetaldehyd enthalten, dem wie allen Aldehyden eine starke Reizwirkung zukommt. Der reine Metaldehyd ruft bei der Bindehaut des Kaninchens keine Reaktion hervor, wie wir oben zeigen konnten.

Für den Metaldehyd ist weiterhin charakteristisch, daß die Wirkung, wenn sie deutlich ist, viel länger anhält als beim Paraldehyd. Das geht aus den vorliegenden Tierversuchen hervor, wie auch aus den wenigen bisher bekannt gewordenen Vergiftungsfällen am Menschen. Beim Menschen wurde eine Wirkungsdauer von 60 Stunden (Wolfer[6], a. a. O.) bis mehrere Wochen (Mager[7], a. a. O.) beobachtet. Die wirksamen Dosen von Metaldehyd waren in diesen Fällen nicht feststellbar, da stets unbestimmte Mengen der Substanz durch Erbrechen entfernt wurden. Aus diesem Grunde läßt sich auch über die tödlichen Gaben am Menschen nach den Fällen von Zeynek und Haurowitz[8], a. a. O., und Ingolf[9], a. a. O., nichts aussagen. Die Empfindlichkeit gegenüber dem Metaldehyd ist, wie die Selbstversuche von Mager und Leibbrandt[7], a. a. O., zeigen, bei den einzelnen Menschen sehr verschieden: In einem Fall führten 0,045 g Metaldehyd pro kg nur zu Singultus und großer, nicht zum Schlafe zwingender Müdigkeit, im anderen Fall traten schwerste, langanhaltende Vergiftungserscheinungen auf, wie Erbrechen, Krämpfe, Bewußtseinsverlust, unwillkürliches Harnlassen usw. Auch bei den verschiedenen Tierarten scheint die Empfindlichkeit gegenüber dem Metaldehyd sehr verschieden zu sein: Nach Mager[7], a. a. O., ertrugen weiße Mäuse und Kaninchen noch 0,5 g Metaldehyd pro kg Körpergewicht. Diese Dosis wirkt nach Kunkel[4], a. a. O., S. 464, an Hunden bereits tödlich. In unseren Versuchen an Fröschen trat schon nach etwa 1 mg Metaldehyd pro kg in einer Reihe von Fällen bereits der Tod ein. 1,0 mg pro kg Frosch ist nach den vorliegenden Untersuchungen auch die wirksame Dosis für Metaldehyd, für Paraldehyd beträgt sie am Frosch dagegen, wie oben gezeigt, bei derselben Applikationsart 4,2 g pro kg, d. h. wenn man das Molekulargewicht des Metaldehyds nach der Formel $(CH_3CHO)_4$ mit 192 ansetzt, ist die Wirksamkeit des Metaldehyds am Frosch 6000mal so groß wie die des Paraldehyds.

Die Wirkung des Metaldehyds ist auch wesentlich intensiver als die des Paraldehyds, wie in unseren Versuchen an Fischen gezeigt wurde. Wird eine Rotfeder in tiefer Paraldehydnarkose in eine Lösung umgesetzt, welche dieselbe Paraldehydkonzentration enthält, außerdem aber noch Metaldehyd, so macht sich sofort die Krampfwirkung des Metaldehyds geltend. Vielleicht spielt hier eine erregende Komponente der Paraldehydwirkung eine Rolle, auf die in unseren Versuchen an Fischen und Blutegeln

hingewiesen wurde, die man auch am Menschen beobachtet (Tappeiner[20], a. a. O.). Wir wissen ferner, daß am Hund und am Menschen in der Paraldehydnarkose die Reflexe nur erlöschen, wenn das Atemzentrum gelähmt wird (Erben[26]). In diesem Zusammenhang wird es auch verständlich, daß am Menschen bei der Metaldehydvergiftung die schlafmachende Wirkung des Chlorals abgeschwächt ist, wie der Fall von Wolfer[6], a. a. O., zeigt.

Der Paraldehyd wirkt als ganzes Molekül, da seine Ausscheidung durch die Lungen, die Haut und die Nieren unverändert erfolgt, hauptsächlich durch die Lunge (Meyer-Gottlieb[27], Kochmann[2], a. a. O.). Auch beim Metaldehyd wirkt das ganze Molekül. Sonst käme beim Paraldehyd wie beim Metaldehyd eine Umwandlung in Azetaldehyd und Alkohol in Betracht. Wäre dies der Fall, so wäre bei beiden Substanzen die Wirkung ähnlich. Sie ist aber, wie oben gezeigt, grundsätzlich verschieden. Eine Umwandlung des Metaldehyds in Azetaldehyd ist schon unwahrscheinlich, wenn man die kleine wirksame Dosis des Metaldehyds am Frosch betrachtet. Es ist bereits 1,0 mg Metaldehyd pro kg Frosch sehr wirksam. Nach Coppola[3], a. a. O., wird aber erst bei 0,25—0,4 g Azetaldehyd pro kg am Frosch eine Wirkung beobachtet. Aus diesen Gründen darf angenommen werden, daß außer dem Paraldehyd auch der Metaldehyd als ganzes Molekül wirkt.

Zusammenfassung.

Paraldehyd in 10%iger Lösung, einem Frosch in den Brustlymphsack injiziert, führt in Dosen von 4,2 g pro kg an aufwärts innerhalb einer Viertelstunde zur Narkose. Ein Exzitationsstadium wurde weder zu Beginn noch gegen das Ende der Narkose beobachtet.

Metaldehyd in einer Lösung von etwa 1 : 5000, 1 ccm in den Brustlymphsack des Frosches injiziert, führt erst nach über 1 Stunde zu krampfähnlichen Anfällen und Reflexsteigerung, die tagelang anhalten. Tetanus wurde nie beobachtet, auch nicht nach intravenöser Injektion. Es schließt sich ein über Tage sich erstreckendes Lähmungsstadium an, das meist mit dem Tod endet.

Die wirksamen Dosen von Paraldehyd und Metaldehyd verhalten sich am Frosch wie 6000 : 1.

Paraldehyd und Metaldehyd greifen am Zentralnervensystem an.

Das isolierte Froschherz wird erst durch eine Paraldehydkonzentration 1 : 10 irreversibel gelähmt. Metaldehyd-Ringerlösungen hatten keine sichtbare Wirkung auf das isolierte Froschherz. Auch das Froschherz in situ wurde weder durch Paraldehyd noch durch Metaldehyd beeinflußt.

An Rotfedern wurde in Paraldehydlösungen in Leitungswasser von 1,5‰ an aufwärts bei 18° Wassertemperatur Narkose beobachtet, die

---

[26] Erben, F.: Vergiftungen, Klin. Teil, II, S. 58, Berlin-Wien 1910. — [27] Meyer-Gottlieb: Exper. Pharmak. **1933**, S. 102, 8. Auflage.

durch ein deutliches Exzitationsstadium eingeleitet war. Beim Abklingen der Narkose nach Überführung des Fisches in frisches Leitungswasser zeigt sich kein Exzitationsstadium.

Die Metaldehydwirkung tritt im Gegensatz zum Frosch an Rotfedern in wenigen Minuten ein, in einer Metaldehydlösung in Leitungswasser etwa 1 : 5000. Es wurden Reflexsteigerung und deutliche lang anhaltende Krämpfe beobachtet, die bis zum Tode anhielten. Auch in Seitenlage waren stets Zuckungen festzustellen.

Eine völlige Erholung war nur möglich, wenn der Fisch in frisches Wasser umgesetzt wurde, bevor er unter der Metaldehydwirkung Seitenlage ertrug.

Auch an Fischen ist der Metaldehyd wesentlich giftiger als der Paraldehyd.

Die Metaldehydkrämpfe sind am besten an kleinen Fischen von etwa 1,5 g bei einer Wassertemperatur von 18° zu beobachten.

Eine tiefe Paraldehydnarkose an Rotfedern läßt sich durch Metaldehyd aufheben.

An Rotfedern tritt nach Paraformaldehyd und Aldol nur Erregung und Reflexsteigerung auf. Narkose war mit beiden Substanzen nicht hervorzurufen.

Am intakten Blutegel tritt durch 1 %ige Paraldehydlösung ein Exzitationsstadium auf. Die Saugfähigkeit wird durch Paraldehyd von Anfang an aufgehoben, es kommt zu voller Narkose, die nach Verbringen in reines Leitungswasser in 5—10 Minuten aufzuheben ist.

Am intakten Blutegel ist durch Metaldehyd keine Narkose hervorzurufen, wohl zeigen sich langdauernde Zeichen heftiger Erregung. Die Saugfähigkeit erlischt unter der Metaldehydwirkung nicht.

Charakteristisch sind nach längerer Einwirkung des Metaldehyds auftretende Kontraktionsringe, die in größerer Zahl gleichzeitig minutenlang bestehen bleiben und sich immer wieder bilden. Die Erholung von der Metaldehydwirkung erfolgt sehr langsam.

Am Muskelschlauch des Blutegels nach Führer ist keine Wirkung von Paraldehyd und Metaldehyd festzustellen.

Am Zentrenpräparat des Blutegels ist dagegen mit Paraldehyd von einer Konzentration von 1 : 500 an eine deutliche Wirkung zu beobachten. Sie setzt sofort ein und führt nach kurzer Erregung (Zunahme von Tonus, Amplitude und Frequenz der Zuckungen) zu einer Lähmung (Tonusabnahme, Abnahme von Amplitude und Frequenz der Zuckungen).

Der Metaldehyd entfaltet am Zentrenpräparat des Blutegels eine ausgesprochene erregende Wirkung. Die Frequenz der Kontraktion nimmt zu, eine Erhöhung von Amplitude und Tonus schließen sich an. Charakteristisch sind für die weitere Wirkung sehr frequente kleine Kontraktionen bei erhöhtem Tonus.

In Lösungen von Metaldehyd, die auch wirksame Paraldehydkonzentrationen enthalten, zeigt das Zentrenpräparat die charakteristische Metaldehydwirkung.

Paraformaldehyd, Formaldehyd führen am Zentrenpräparat des Blutegels zu einer Steigerung der Frequenz der Kontraktionen, zur Erhöhung der Amplitude und einem bedeutenden Tonusanstieg, der allmählich nachläßt.

Für die Wirkung des Aldols ist am Zentrenpräparat eine vorübergehende Erhöhung der Frequenz der Kontraktionen und bei Abnahme der Tonus von Zeit zu Zeit auftretende Einzelkontraktion mit bedeutender Amplitude charakteristisch.

Es wird die Frage der örtlichen Reizwirkung für das Zustandekommen der erregenden Wirkung des Paraldehyds und des Metaldehyds erörtert. Dem Metaldehyd kommt gegenüber dem Paraldehyd überhaupt keine örtliche Reizwirkung zu, selbst wenn der Metaldehyd in Substanz angewandt wird.

Der Paraldehyd sowohl wie der Metaldehyd wirken als ganzes Molekül.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Reichsuniversität Graz.
(Vorstand: Prof. Dr. W. Blume.)

Über die Wirkung des Pervitins auf die Atmung der Ratte und des Meerschweinchens.

Von

Wilhelm Blume und **Rolf Zöllner.**

Mit 2 Textabbildungen (4 Einzelbildern).

(Eingegangen am 6. April 1943.)

Das Pervitin, ein reduziertes Ephedrin, entfaltet, wie wir wissen, vor allem eine erregende Wirkung auf das Zentralnervensystem und den Kreislauf. Das ist durch zahlreiche Tierversuche und Beobachtungen am Menschen bekannt. Wieweit bei der erregenden Wirkung des Pervitins auf das Zentralnervensystem auch die Atmung beeinflußt wird, ist bisher nur wenig berücksichtigt worden, obwohl diese Wirkung in theoretischer und praktischer Hinsicht von Bedeutung ist, wie die Beobachtungen von Hauschild[1,2], Püllen[3], Seifert[4] und Kneise[5] zeigen. Hauschild sah, daß an der Katze in Numalnarkose die durch Morphin gelähmte Atmung durch Pervitin erregt wird, so daß die Atemgröße zunimmt. Nach Hauschild wird die Atmung erst durch höhere Pervitindosen beeinflußt. Ferner stellte Püllen fest, daß auch beim Menschen die atemlähmende Morphinwirkung durch Pervitin unterdrückt wird. Nach Seifert nahm unter der Pervitinwirkung die Atemgröße des Menschen um das $1^1/_2$fache zu. Auf die Vertiefung der Atmung des Menschen nach Pervitin wies auch Kneise hin. Sie soll dazu beitragen, die Pneumonie im Anschluß an Operationen zu verhüten. Aus dieser Übersicht geht vor allem die praktische Bedeutung der Atemwirkung des Pervitins hervor, sie zeigt weiter, daß die Atemwirkung des Pervitins namentlich im Tierversuch noch gar nicht systematisch studiert worden ist. Daher war der Zweck der vorliegenden Untersuchungen, die Wirkung des Pervitins auf die Atmung der Ratte und des Meerschweinchens näher kennenzulernen, die Ergebnisse miteinander zu vergleichen und sie gegebenenfalls den Versuchsergebnissen gegenüberzustellen, die früher (Blume[6]) mit Morphin an der Atmung der weißen Maus erhalten wurden. Bei diesen Versuchen waren neben der Atemfrequenz, dem Atemvolumen und der Atemgröße auch die Faktoren

[1] Hauschild, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 467 (1938). — [2] Hauschild, F.: Klin. Wschr. **1938**, Nr. 31, S. 1257. — [3] Püllen, L.: Münch. med. Wschr. **1939**, Nr. 26, S. 1001. — [4] Seifert, W.: Dtsch. med. Wschr. **1939**, Nr. 23, S. 913. — [5] Kneise, G.: Dtsch. Z. Chir. **252**, 664 (1939). — [6] Blume, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **200**, 389 (1942).

zu berücksichtigen, welche ebenfalls die früher entwickelte Methode der Messung zugänglich gemacht hat: Die Aufeinanderfolge der einzelnen Atemvolumina, die Sauggeschwindigkeit und der Quotient Ausatmungszeit zu Einatmungszeit.

Versuchsanordnung.

Das Pervitin* wurde in jedem Versuch subcutan unter die Rückenhaut der Versuchstiere gespritzt. Die Ratten erhielten das Pervitin in jedem Fall in einer Verdünnung des Ampulleninhalts im Verhältnis 1 : 10 mit 0,9%iger Kochsalzlösung. Den Meerschweinchen injizierten wir die Pervitinlösung für den Gabenbereich von 20—0,5 mg/kg unmittelbar aus der Ampulle. Zur Injektion von 0,1 mg Pervitin pro kg wurde die Pervitinlösung der Ampulle im Verhältnis 1 : 10 und zur Applikation von 0,05 und 0,01 mg/kg im Verhältnis 1 : 100 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. Die Herstellung aller Verdünnungen erfolgte kurz vor der Anwendung.

Zur Messung und Registrierung der Atmung diente die früher entwickelte Methode (Blume[7]). Außer dem bereits geeichten und in der Arbeit von Blume[6] abgebildeten weiten Rohr (1 cm = 1 ccm) mit dem entsprechenden Hüpfer, wurden noch zwei Rohre derselben Art angewandt, deren Empfindlichkeit nach Eichung in der früher beschriebenen Weise dem ersten entsprach, so daß die in der genannten Arbeit angegebene lineare Eichkurve auch zur Ermittlung der tatsächlichen Werte bei allen drei Rohren dienen konnte. Eine große Reihe von Messungen an allen drei Rohren mit Ratten und Meerschweinchen durchgeführt, ergaben außerdem in jedem Fall hinreichend übereinstimmende Werte.

Die Messung wurde, wie früher beschrieben, vorgenommen. Der Kasten für die Aufnahme der Tiere, ebenso wie die Glasmaske, die den Tieren über den Kopf gestülpt wurde, der Größe der Tiere entsprechend verwendet. Vor jeder Pervitineinspritzung wurde die normale Atmung in jedem Fall wenigstens 2 Stunden lang alle 5 Minuten gemessen, zwei bis vier Gänge des Hüpfers mit der Stoppuhr in der Hand jeweils beobachtet bzw. registriert. Dasselbe geschah nach der Pervitineinspritzung in jedem Fall $3^1/_2$ Stunden lang.

Die im folgenden angegebenen Atemvolumina entsprechen den nach der Eichkurve ermittelten Werten.

Die normale Rattenatmung.

Es wurden 37 Ratten beobachtet und Frequenz und Volumen der Atemzüge mindestens 2 Stunden lang hintereinander bei jedem Tier gemessen. Es zeigte sich, daß mit steigendem Körpergewicht die Frequenz ab-, das Volumen des einzelnen Atemzuges jedoch so zunahm, daß die Atemgröße deutlich anstieg, wie es aus der Tabelle 1 klar zu ersehen ist.

Tabelle 1.

Zahl der Tiere	Durchschn. Gewicht g	Frequenz	Volumen	Atemgröße
23	111	152	1,5	228
14	229	134	2,5	336

* Das Pervitin wurde uns von den Temmler-Werken in den Originalampullen zur Verfügung gestellt, wofür an dieser Stelle bestens gedankt sei.

[7] Blume, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **180**, 616 (1936).

Ähnliche Beobachtungen wurden früher auch an Mäusen gemacht (Blume[6], a. a. O.).

Die normale Atmung ist bei jungen Tieren mit einem Gewicht von durchschnittlich 100 g unregelmäßiger, als bei Ratten von 150 g und mehr. Im Laufe der zweistündigen Messungen sinkt im allgemeinen die Atemfrequenz etwas und damit auch die Atemgröße. Für die Beurteilung der Pervitinwirkung fallen diese Schwankungen nicht ins Gewicht.

Versuche mit Pervitin an der Ratte.

0,05 mg Pervitin pro kg und 0,1 mg Pervitin pro kg beeinflussen die Atmung der Ratte nur insofern, als sie frequenter, dabei leicht unregelmäßig wird, ohne daß sich die Atemgröße wesentlich ändert, denn das Volumen nimmt mit zunehmender Frequenz entsprechend ab. Vereinzelt zeigen die Tiere weitere Zeichen der Erregung, die sich in Schreien äußern, in ruckartigem Zurückwerfen des Kopfes bei Berührung, ferner in Leckbewegungen. Dieser Erregungszustand kann bis zu 1 Stunde anhalten. Bei anderen Tieren sind diese Äußerungen der Erregung nur angedeutet, halten oft nur bis zu einer halben Stunde nach der Injektion an. Werden die Tiere nach der Messung der Atmung aus dem Kasten herausgenommen, so fällt an ihnen Ruhelosigkeit auf. Sie drehen sich bei gestreckter Hinterhand im Kreise, putzen sich emsig mit den Vorderpfoten, nagen, halten plötzlich mit diesen Bewegungen inne und fangen unvermittelt an zu schnuppern. Vergleiche hierzu auch Hauschild[1]. Die Gesamtdauer der Wirkung beträgt über 3 Stunden.

Nach subcutaner Injektion von 0,5 mg Pervitin pro kg und höheren Dosen nimmt die Atemgröße zu, da vor allem die Atemfrequenz wächst, weniger stark das Volumen des einzelnen Atemzuges. Die Atmung ist dabei in der Weise verändert, daß bei bereits erhöhter Frequenz kurze Perioden besonders rascher Atemzüge wechselnden Volumens auftreten. Der Durchschnittswert der Atemgröße aller Messungen in Abständen von 5 Minuten während $3^1/_2$ Stunden nach der Injektion liegt bei 6 Versuchen 30—100 %, durchschnittlich 60 % über der Norm. In 3 von 6 Versuchen war die Atemgröße der Normalperiode nach $3^1/_2$ Stunden nach der Injektion festzustellen, in einem Fall lag die Atemgröße nach dieser Zeit unter diesem Wert, in den übrigen beiden Fällen 30 bzw. 50 % über der Norm.

Nach 1 mg Pervitin pro kg war in 6 Versuchen die Wirkung auf die Atemgröße der Ratte in auffallender Weise geringer als nach 0.5 mg Pervitin pro kg. Die durchschnittliche Steigerung der Atemgröße bei allen 6 Versuchen betrug nur 24 %. In 2 Fällen wurde die Norm überhaupt nicht überschritten, bei den übrigen 4 Versuchen war eine durchschnittliche Zunahme um 14—47 % gegenüber der Norm festzustellen. Die Höchstwerte der Einzelmessung überstiegen die Norm nur um 85 %. Die Wirkung des Pervitins erstreckte sich bei der Dosis von 1 mg pro kg Ratte allein

auf die Atemfrequenz, die zunahm, während das Volumen des einzelnen Atemzuges gleich blieb, bzw. abnahm.

Mit diesen Veränderungen der Atmung nach 0,5 und 1 mg Pervitin pro kg gehen die bereits geschilderten Motilitätsstörungen einher. Die Kopfbewegungen sind stärker als bei den Dosen von 0,1 und 0,05 mg pro kg. Die Zungenbewegungen, die wenige Minuten bis zu 1 Stunde nach dem Auftreten der Kopfbewegungen sich zeigen, werden auffallenderweise überaus heftig, entsprechend den kurzen Perioden plötzlicher Atembeschleunigung, die oben dargestellt wurden. Außer der früher beobachteten erhöhten Beweglichkeit zeigen die Tiere nach 0,5 und 1 mg Pervitin pro kg Anfälle stürmischen Laufens: Sie schießen wie blind aus dem geöffneten Kasten heraus, über die Tischplatte und fallen auf den Boden. Die Bewegungen sind im übrigen, obwohl lebhaft, doch unsicher. Die Tiere taumeln wie narkotisiert.

Nach $3^1/_2$ Stunden nach der Injektion von 0,5 mg Pervitin pro kg war bei 3 von 6 Tieren die normale Atemgröße erreicht, bei 3 anderen war sie um rund 25—50% erhöht. $3^1/_2$ Stunden nach der Injektion von 1 mg Pervitin pro Kilo war die Atemgröße in 4 von 6 Fällen um 10—20% der Norm herabgesetzt, in 2 Fällen um 20—50% über die Norm erhöht. Die Wirkung von 0,5 und 1 mg Pervitin pro kg ist nach 4—6 Stunden völlig abgeklungen.

Wie die Atmung durch große Pervitindosen wie 1,5, 2,0, 2,5 und 3,0 mg Pervitin pro kg Ratte quantitativ beeinflußt wird, soll in der Tabelle 2 anschaulich gemacht werden. Diese Aufstellung gibt eine Übersicht über die Wirkung des Pervitins an der Ratte überhaupt, soweit sie nach den vorliegenden Untersuchungen zahlenmäßig darstellbar ist.

Tabelle 2.

1 Zahl der Tiere	2 Dosis in mg pro kg Ratte	3 Atemgröße	4 Atemfrequenz	5 Volumen des einzelnen Atemzuges
3	3	+ 67	+ 24	+ 22
4	2,5	+ 34	+ 63	— 16
4	2	+ 65	+ 40	+ 22
4	1,5	+ 74	+ 51	+ 16
6	1	+ 24	+ 32	— 9
6	0,5	+ 62	+ 33	+ 23

In der Tabelle 2 sind neben der Spalte 1, welche die Zahl der jeweils verwendeten Tiere angibt, in Spalte 2 die entsprechenden Pervitindosen in mg pro kg aufgeführt. In den Spalten 3, 4 und 5 finden sich die nach den betreffenden Gaben erhaltenen Durchschnittswerte aller Messungen (Frequenz, Volumen des einzelnen Atemzuges, Atemgröße) an allen Versuchstieren während der gesamten Beobachtungszeit. Diese Beobachtungszeit nach der Injektion betrug $3^1/_2$ Stunden, sofern die Tiere

nicht vorher starben, was bei den Ratten, die 2,0, 2,5 und 3,0 mg Pervitin pro kg bekommen hatten, meist der Fall war. Die Zahlen bedeuten, sofern sie mit einem + versehen sind, die dazugehörende durchschnittliche Zunahme von Atemgröße, Frequenz, Volumen des einzelnen Atemzuges in Prozenten gegenüber den Werten der Normalperiode. Die mit einem — versehenen, die Abnahme in Prozenten gegenüber den entsprechenden Werten der Normalperiode.

Aus der Tabelle 2 geht hervor, daß im Gabenbereich von 1,5—3,0 mg Pervitin pro kg nur eine erregende Wirkung auf die Atmung der Ratte beobachtet wird. Oben ist gezeigt worden, daß auch kleinere Dosen keine lähmende Wirkung auf die Atmung entfalten. Vergleiche hierzu die Versuche von Hess[8] unter Hildebrandt. Weiterhin ist aus der Tabelle zu ersehen, daß die Wirkung von 1,5, 2,0, 2,5 und 3,0 mg Pervitin pro kg auf die Atmung der Ratte nicht wesentlich verschieden ist von der von 0,5 und 1,0 mg. Die Atemgröße erreicht etwa dieselbe Höhe bei 0,5 wie bei 1,5, 2,0 und 3,0 mg und bei 1,0 mg pro kg die bei 2,5 mg pro kg. Die Übersicht zeigt weiter, daß unter der Pervitinwirkung an der Ratte im allgemeinen die Atemfrequenz gegenüber dem Volumen des einzelnen Atemzuges stärker ansteigt, daß das Volumen des einzelnen Atemzuges sogar abnehmen kann, wie es in den 10 Versuchen mit 1,0 und 2,5 mg Pervitin pro kg der Fall war. Fassen wir bei allen Versuchsgruppen die halbstündigen Durchschnittswerte von 6 Messungen für das Volumen des einzelnen Atemzuges, die Atemfrequenz und die Atemgröße ins Auge, so zeigt sich, daß die halbstündigen Durchschnittshöchstwerte für das Volumen des einzelnen Atemzuges mit der ersten halben Stunde, für die Frequenz mit der zweiten bis vierten halben Stunde auftreten. Der halbstündige Höchstwert der Atemgröße wird bei allen Versuchen mit der zweiten halben Stunde erreicht, außer bei den Versuchen mit 0,5 mg Pervitin pro kg. Hier wurde der Höchstwert erst mit der dritten halben Stunde festgestellt.

Bei den Ratten, welche nach der Pervitininjektion starben, trat das Absinken der Atemgröße plötzlich ein, indem das Volumen und Frequenz abnahmen, in einzelnen Fällen nahm das Volumen ab, die Frequenz dagegen erheblich zu. Der Tod erfolgte meist unter Krämpfen. Die letale Dosis nach subcutaner Injektion liegt nach unseren Versuchen zwischen 1,5 und 3,0 mg Pervitin pro kg Ratte. Die Tiere, welche überlebten, zeigten nach 1,5 mg Pervitin pro kg am folgenden Tag noch eine gegenüber der Norm erhöhte Atemgröße. Hier war vor allem das Volumen des einzelnen Atemzuges erhöht. Bei 2 Ratten, die 2,5 mg pro kg ertrugen, war dagegen die Atemgröße am Tag nach der Injektion herabgesetzt. In einem Fall hauptsächlich das Volumen, im anderen Frequenz- und Volumen. Die Ratten machten auch einen schläfrigen Eindruck.

---

[8] Hess, J.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 206 (1941).

Wenn wir den Einfluß des Pervitins auf die Rattenatmung allein betrachten, so läßt sich die Wirkung von Dosen wie 3,0, 2,5, 2,0 und 1,5 mg pro kg nicht gegen die von 1,0 und 0,5 mg pro kg Ratte abgrenzen, wie oben gezeigt wurde. Jedoch unterscheidet sich die Wirkung der Dosis von 1,5 mg pro kg und darüber von kleineren 1. dadurch, daß mit 1,5 mg die tödlichen Gaben beginnen und 2. dadurch, daß mit den Dosen von 1,5 mg pro kg aufwärts die Bewegungsstörungen bedeutend intensiver werden: Es traten häufig Krämpfe auf, ferner ist der Nagetrieb derart, daß die Tiere wütend auf alles beißen, was man ihnen vorhält, also auch Metallgegenstände. Oft brechen bei diesem Nagen die Zähne ab. Meist ist eine bedeutende Speichelsekretion zu beobachten. Weiter zeigt sich Exophthalmus mit einem Verlust der Cornealreflexe. Die Hornhaut selbst scheint geschrumpft. Bemerkenswert sind auch Sensibilitätsstörungen, die sich darin äußern, daß auf Kneifen des Schwanzes keine Reaktion erfolgt. Verlust der Sensibilität und erhöhter Nagetrieb führen dann zu Selbstverletzungen an Pfoten und Bauchdecken, wie sie von Hauschild [1], a. a. O., beobachtet wurden. Mit dem Verlust der Sensibilität geht auch wohl ein Verlust oder eine Beeinträchtigung des Sehvermögens einher, die Tiere laufen über den Tischrand hinaus oder gegen die Wand. Die Ratten ertragen oft Seitenlage.

Der rasche Eintritt der Totenstarre, wie er von Hauschild [1], a. a. O., nach Pervitin beobachtet wurde, und wie wir ihn selbst häufig sahen, wird bekanntlich stets bei sehr lebhafter Muskeltätigkeit vor dem Tode, also bei Krämpfen, bei Tetanus, Cholera oder bei der Strychninvergiftung wahrscheinlich nach dem Tod durch alle Krampfgifte festgestellt (Landois-Rosemann [9], Fletscher [10]).

Die vorliegenden Versuche mit Pervitin an Ratten zeigen, daß dieser Substanz neben der erregenden Wirkung auf das Atemzentrum eine noch ausgesprochenere auf die Motilität zukommt. Es wäre denkbar, daß die Wirkung auf die Motilität sekundär das Atemzentrum in Mitleidenschaft zieht, so wie bei zunehmender körperlicher Tätigkeit Frequenz und Volumen des einzelnen Atemzuges entsprechend wachsen. Das ist unter der Pervitinwirkung an Ratten nicht der Fall, denn wie die vorliegenden Versuche zeigen, ist die Wirkung auf die Motilität bei Pervitindosen von 0,05 und 0,1 mg pro kg schon ausgesprochen, ohne daß die Atemgröße beeinflußt ist. Aus den vorliegenden Versuchen geht ferner hervor, daß mit steigenden Dosen die Wirkung auf die Motilität wächst, während die auf das Atemzentrum bei steigenden Dosen von 0,5 mg über 1,0, 1,5, 2,0, 2,5 bis 3,0 mg Pervitin pro kg Ratte eher ab- als zunimmt.

Es besteht auch die Möglichkeit, daß vom Großhirn aus und den höheren Zentren des Zentralnervensystems unter der Pervitinwirkung dem Atemzentrum Impulse zugeleitet werden, die es so zu erhöhter Tätigkeit

[9] Landois-Rosemann: Lehrb. d. Physiologie d. Menschen, S. 457. Berlin-Wien 1935. — [10] Fletscher, W. M.: J. Physiol. (Brit.) 47, 375 (1913/14).

anregen. Wenn das der Fall ist, dann müßte die Pervitinwirkung auf das Atemzentrum durch Decerebrierung auszuschalten sein. Einige Versuche dieser Art zeigten, daß Ratten, denen der Hirnstamm vor den Vierhügeln in tiefer Äthernarkose durchtrennt worden war, nach Aufhebung der Narkose und voller Entwicklung der Enthirnungsstarre alle Zeichen der Pervitinwirkung auf die Motilität und die Atmung aufwiesen, wie sie ähnlich an intakten Ratten früher beobachtet worden war. Zur Technik der Decerebrierung der Ratten vergleiche Jarisch[11] und Blume[12].

Die vorliegenden Pervitinversuche an Ratten lassen sich nach den Dosen in zwei Gruppen teilen: 1. Dosen von 0,05 und 0,1 mg Pervitin pro kg Tier führen zu einer Steigerung der Motilität, ohne die Atemgröße zu beeinflussen. 2. Dosen von 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5 und 3,0 mg Pervitin pro kg Ratte entfalten eine erregende Wirkung auf die Motilität und die Atmung. Die erregende Wirkung auf die Motilität steigt mit der Gabengröße, während die Wirkung auf die Atemgröße mit der Dosis nicht zunimmt. Dosen von 1,5—3,0 mg pro kg sind als letale zu bezeichnen. Sie führen auch meist zu Krämpfen.

Um über die Besonderheiten der Atmung hinsichtlich der zeitlichen Aufeinanderfolge der Atemvolumina, ihre vielleicht wechselnde Größe, über die Zeiten der Ein- und Ausatmung und die davon abzuleitende Sauggeschwindigkeit Aufschluß zu erhalten, wurden eine Reihe Atemkurven photographisch aufgenommen. Vergleiche hierzu Blume[6], a. a. O.

Die Atemkurven zeigten, daß bei der normalen Rattenatmung die aufeinanderfolgenden Volumina der einzelnen Atemzüge ziemlich gleichmäßig sind. Der Quotient Ausatmungszeit/Einatmungszeit schwankt an der normalen Ratte zwischen 1,4 und 2. Die absolute Sauggeschwindigkeit bewegt sich zwischen 8,4 und 12. Bei unregelmäßiger beschleunigter Atmung kann sie vorübergehend auf 18 steigen. Die relative Sauggeschwindigkeit entspricht der Atemgröße.

Die üblichen Daten der Atemmessung, die Frequenz, das Volumen des einzelnen Atemzuges und die von diesen beiden Faktoren abhängige Atemgröße, sagen noch nichts aus über den Ablauf der einzelnen Atemzüge. Eine einfache Überlegung zeigt, daß bei derselben Frequenz und demselben Volumen des einzelnen Atemzuges, also auch der gleichen Atemgröße, und der gleichen relativen Sauggeschwindigkeit, die absolute Sauggeschwindigkeit sehr verschieden sein kann, entsprechend dem Quotienten Ausatmungszeit/Einatmungszeit. Für die pharmakologische Analyse einer Substanz, die auf das Atemzentrum wirkt, können diese Verhältnisse von großer Bedeutung sein.

Betrachten wir nach diesen Vorbemerkungen die Pervitinwirkung auf die Atmung der Ratte, wie sie sich nach der Ausmessung der entsprechenden

---

[11] Jarisch, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **117**, 59 (1926). — [12] Blume, W.: Ebenda **175**, 746 (1934).

Atemkurven darstellt. Auf eine Wiedergabe der Kurven wurde verzichtet, da sie auf dem Kriegspapier nur in sehr unvollkommener Weise gelingt.

Die ausgesprochene Pervitinwirkung auf die Atmung der Ratte, wie sie nach einer hohen Dosis von 5,0 mg Pervitin pro kg 28 Minuten nach der Injektion beobachtet wurde, äußert sich nach der Atemkurve, die als Beispiel auch für den gesamten Gabenbereich von 5,0—0,5 mg Pervitin pro kg gelten kann, folgendermaßen: Die Frequenz ist von 152 auf 315 gestiegen. Die Größe der einzelnen Atemvolumina wechselt. Für die Pervitinwirkung ist charakteristisch die Aufeinanderfolge verhältnismäßig kleiner und großer Atemzüge, die weit über die Norm hinausgeht. Die Schwankungsbreite der Volumina liegt zwischen 1 und 3,7. Die Atemgröße ist von 304 auf 570 gestiegen. Bemerkenswert ist weiter die hohe absolute Sauggeschwindigkeit, die nach den Messungen aus der Kurve steigt bis 36 und fällt auf 14,5 in dauerndem Wechsel. Sie ist aber stets höher als in der Norm. Der Quotient Ausatmungszeit/Einatmungszeit bewegt sich um die Normalwerte. Er kann bis zu 1 und weniger herabsinken und bis etwa 3 steigen, im Gegensatz zu den Beobachtungen der Atmung an Morphinmäusen, wo der Quotient viel mehr zunimmt (Blume[6], a. a. O.). Unter der Pervitinwirkung kann er in ähnlicher Weise wachsen. Das ist aber nur der Fall bei starker Erschöpfung des Atemzentrums kurz vor dem Tode. Die absolute Sauggeschwindigkeit ist aber dann meist noch gegenüber der Norm nach Pervitinanwendung erhöht, während an der Morphinmaus auch die absolute Sauggeschwindigkeit abnimmt.

Das Bild der Atemkurve, das die Nachwirkung größerer Pervitindosen zeigt, entspricht auch dem der Pervitinwirkung auf die Meerschweinchenatmung nach Pervitindosen von 5,0—0,5 mg pro kg, wie sie später geschildert werden wird. Im übrigen ähnelt es der normalen Atemkurve der Ratte.

Wie bei der Maus nach Morphin kann es auch an der Ratte nach subcutaner Injektion von Pervitin zu periodischer Atmung kommen. Es kann dann Gruppenbildung der Atemzüge auftreten. So wurde es z. B. 50 Minuten nach Injektion von 1,0 mg Pervitin pro kg Ratte kurz vor dem Tode beobachtet: 1—2 kleine Atemzüge von 0,3—0,5 ccm in ziemlich regelmäßigem Wechsel mit 1—2 großen von 1,8—2,3 ccm; ebenso nehmen die Atempausen bzw. Ausatmungszeiten von 0,7—1—2 Sekunden zu und wieder ab. Die Atemgröße war von 300 auf 71 gesunken und der Quotient Ausatmungszeit/Einatmungszeit auf 10 gestiegen (hier sind wahrscheinlich Atempausen in die Ausatmungszeit mit eingerechnet). Die absolute Sauggeschwindigkeit entspricht jedoch der Norm.

Eine andere Atmungsform, ebenfalls kurz vor dem Tode nach Injektion von 3,0 mg Pervitin pro kg aufgenommen, $1^1/_2$ Stunden nach der Pervitingabe, stellt sich folgendermaßen dar, ähnlich wie früher nach der Morphinwirkung an der Maus: Die Atemvolumina schwanken zwischen 0,8—1 ccm, aber die Ausatmungszeiten bzw. Atempausen nahmen periodisch zunächst

von 0,7—1,1 Sekunden zu und wieder ab, anschließend von 1,5—2,5 Sekunden zu und wieder ab bis zu 1,5 Sekunden. Die absolute Sauggeschwindigkeit ist noch über die Norm erhöht.

Gegenüber der Wirkung des Pervitins auf die Atmung der Ratte ist die auf die Atmung des Meerschweinchens recht verschieden. Sie soll uns im folgenden beschäftigen, nachdem wir die Atmung des normalen Meerschweinchens kennengelernt haben.

Die normale Meerschweinchenatmung.

Auch beim Meerschweinchen sind Frequenz und Volumen des einzelnen Atemzuges abhängig vom Körpergewicht, so wie es bereits bei Mäusen (Blume[6], a. a. O.) und auch bei Ratten (s. oben) beobachtet wurde. An 62 Meerschweinchen wurde die normale Atmung bei jedem Tier wenigstens 2 Stunden lang beobachtet. Das Ergebnis ist in der nachstehenden Übersicht, Tabelle 3, zusammengefaßt:

Tabelle 3.

Zahl der Tiere	Durchschn. Gewicht g	Frequenz	Volumen	Atemgröße
16	354	84	2,5	208
28	458	77	3,4	262
18	612	65	3,8	246

Diese Tabelle zeigt, daß die Frequenz mit steigendem Körpergewicht ab-, während das Volumen des einzelnen Atemzuges zunimmt. Das Wachsen der Atemgröße mit steigendem Körpergewicht ist viel geringer, als es bei Ratten beobachtet wurde. Die Atemgröße des Meerschweinchens ist auch nach unseren Versuchen kleiner als die der Ratten. Das Volumen des einzelnen Atemzuges beim Meerschweinchen ist dagegen größer als bei der Ratte, andererseits beträgt die durchschnittliche Atemfrequenz des Meerschweinchens etwa nur 50 % des bei der Ratte festgestellten Durchschnittswertes.

Eine Anzahl von Versuchen wurde durchgeführt, um festzustellen, ob der Temperatur der Umgebung ein Einfluß auf die Atmung zukommt, vielleicht in dem Sinne, daß durch längere Einschließung in dem Kasten durch Erwärmung des Tieres die Atemgröße steigt. Das ist nicht der Fall. Die Temperatur der Tiere selber, rectal gemessen, sinkt nach unserer Beobachtung sogar im Kasten während $2^1/_2$ Stunden um etwa 1^0. Nur ausnahmsweise wurde ein Steigen der Körpertemperatur um etwa 1^0 beobachtet. Ein Einfluß auf die Atmung war ebenfalls nicht festzustellen. Es war gleichgültig, ob die Tiere dauernd im Kasten während der Messungen gehalten wurden, oder ob sie in Abständen von 1 Stunde, 10 Minuten lang in Freiheit gesetzt wurden. Ebenso konnte in einer Reihe von Messungen

gezeigt werden, daß die Tageszeit ohne nennenswerten Einfluß auf die Atmung des Meerschweinchens ist. Frequenz und Volumen des einzelnen Atemzuges bewegen sich bei Messungen vormittags und auch nachmittags in denselben Grenzen. Im Kasten wird die Frequenz sofort herabgesetzt, durchschnittlich um etwa 20% der Norm. Das hängt wahrscheinlich mit einer veränderten Thorax- bzw. Zwerchfellstellung zusammen (Hess[13]).

Versuche mit Pervitin am Meerschweinchen.

8 Tiere wurden mit je 20 mg Pervitin pro kg behandelt. Sofort nach der subcutanen Injektion steigt in der Mehrzahl der Fälle die Atemfrequenz, während das Volumen des einzelnen Atemzuges abnimmt, so daß anfänglich die Atemgröße kleiner ist als in der Norm. Ausnahmsweise sinken im Beginn der Wirkung Volumen und Frequenz, oder beide werden gesteigert. Im weiteren Verlauf nimmt neben dem Volumen des einzelnen Atemzuges vor allem die Frequenz erheblich zu, so daß die Atemgröße bedeutend steigt. In der Mehrzahl der Fälle wird das Maximum der Wirkung auf die Atmung 1 Stunde nach der Injektion erreicht. Die Atemgröße kann um das $^1/_2$- bis 5fache der Norm zunehmen. Die jeweils erreichten Höchstwerte sind also recht verschieden. Die Atmung geht nach der einfachen Beobachtung stoßweise vor sich. Es tritt ein großer Atemzug auf, an den sich kleinere anschließen.

Vor dem Tode (es handelt sich bei 20,0 mg Pervitin pro kg um letale Dosen) wird die Atmung unregelmäßig und verlangsamt. Es tritt Zittern auf, ein kurzer Krampf, ein sehr großer Atemzug von etwa 5 ccm, an den sich mehrere kleine von 1—2 ccm anschließen. Bei der Dosis von 20,0 mg pro kg tritt der Tod meist innerhalb von 2—$2^1/_2$ Stunden nach der Injektion ein. Schon vor dem Tode werden die Schleimhäute auffallend blaß. Ein Meerschweinchen blieb noch 24 Stunden nach der Injektion lebend. Es zeigte einen schlafähnlichen Zustand. Eine sofort nach dem Tode auftretende Totenstarre, wie wir sie an Ratten sahen, wurde am Meerschweinchen nicht beobachtet, obwohl auch an diesem Tier vor allem nach Dosen von 20,0 mg pro kg bedeutende motorische Erregung sich zeigt. Der Tonus der Muskulatur scheint jedoch bei grober Prüfung unter der Pervitinwirkung ebenfalls stets herabgesetzt.

Die Bewegungsstörungen beginnen 5—15 Minuten nach der Injektion, dabei beobachtet man oft Schreien. Der Kopf wird nach rechts und nach links gedreht oder nach vorn in die Atemmaske gezwängt. Die Bewegungen werden 1—$1^1/_2$ Stunden nach der Injektion immer heftiger, nachdem noch nach durchschnittlich 30 Minuten nach der Injektion krampfhaftes Nagen und Lecken aufgetreten ist. Haben sich die Tiere nach dieser Zeit etwas beruhigt, so sind durch Berührungs- oder akustische Reize die geschilderten Bewegungen erneut auszulösen. Vereinzelt zeigt sich ein Zittern der Tiere.

[13] Hess, W. R.: Die Regulierung der Atmung, Leipzig 1931, S. 60.

Für die Wirkung des Pervitins scheint auch die Konzentration von Bedeutung zu sein: Ein Meerschweinchen, das ebenfalls 20 mg Pervitin pro kg, aber in Form des im Verhältnis 1 : 10 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnten Ampulleninhalts subcutan erhalten hatte, zeigte ein Sinken der Atemgröße um 30 %, und die Erregungserscheinungen waren viel weniger ausgesprochen als nach Injektion der konzentrierten Lösung des Ampulleninhalts. Es war so, als hätte das Meerschweinchen 10,0 bzw. 5,0 mg Pervitin pro kg erhalten. Wurden dagegen 20,0 mg ebenfalls wie oben 1 : 10 verdünnt, intraperitoneal injiziert, so stieg die Atemgröße um das $2^1/_2$fache, und die Erregungserscheinungen entsprachen denen, wie sie nach subcutaner Applikation der konzentrierten Lösung beobachtet wurden. Dieses Verhalten des Pervitins erinnert an das des Cocains, von dem wir wissen, daß es in konzentrierter Lösung viel giftiger wirkt als in verdünnter (Poulsson[14]). Auch bei intravenöser Injektion der Opiumalkaloide am Kaninchen wurde von Oelkers[15] beobachtet, daß die Konzentrationen für die Wirkung auf die Atmung sehr wichtig ist. Wieweit eine Potentialgiftwirkung nach Straub[16] im Spiele ist, wäre weiter zu untersuchen.

Von 7 Tieren, die 10,0 mg Pervitin pro kg von der konzentrierten Lösung erhalten hatten, verhielten sich 2 sehr ähnlich wie die Tiere, die 20,0 mg Pervitin pro kg bekommen hatten. Die Atemgröße stieg maximal bis zum Ende der zweiten Stunde auf das $2^1/_2$fache, ja fast bis auf das Dreifache der Norm, bei Erregungserscheinungen, wie sie sonst nur an 20,0 mg Pervitin pro kg beobachtet wurden. Außerhalb des Kastens ertrugen die Tiere Seitenlage, machten krampfhafte Versuche sich aufzurichten, die aber nicht gelangen. Es wurde hauptsächlich die Hinterhand bewegt, die Vorderextremitäten waren gestreckt, der Muskeltonus schien herabgesetzt. Der Tod trat bei beiden Tieren nach $2^1/_2$—$3^1/_2$ Stunden nach der Injektion ein.

Die übrigen 5 Meerschweinchen, die 10,0 mg Pervitin pro kg subcutan erhalten hatten, die aber nicht starben, zeigten eine bedeutende Herabsetzung der Atemgröße unter der Pervitinwirkung. Dasselbe war auch der Fall bei 6 Tieren, die je 5,0 mg Pervitin pro kg subcutan erhalten hatten, weiter bei Meerschweinchen, denen 1,0 mg Pervitin pro kg subcutan eingespritzt worden war.

Die Herabsetzung der Atemgröße erfolgte maximal nach 10,0 mg Pervitin pro kg bis auf 30 %, nach 5,0 mg Pervitin pro kg auf 50 %, nach 1,0 mg Pervitin pro kg bis auf 70 % der Norm. Es wird vor allem das Volumen des einzelnen Atemzuges, weniger die Frequenz, herabgesetzt. Am Ende der Versuchszeit, $3^1/_2$ Stunden nach der Injektion, war in allen diesen Fällen die Norm noch nicht erreicht.

[14] Poulsson, E.: Heffters Handb. exper. Pharmak. II, 1, S. 127 (1920). — [15] Oelkers, H. A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **194**, 297 (1940). — [16] Straub, W.: Pflügers Arch. **119**, 127 (1907).

In 4 Versuchen, die mit 0,5 mg Pervitin pro kg subcutan injiziert angestellt wurden, war das Volumen des einzelnen Atemzuges ebenfalls, aber viel weniger als nach der Anwendung von 1,0 und 5,0 mg Pervitin pro kg herabgesetzt. Die Frequenz blieb normal, so daß in 4 Fällen die normale Atemgröße annähernd erhalten blieb.

Nach 0,1 und 0,05 mg Pervitin pro kg wurde bei einem Teil der Versuche eine Erhöhung der Atemgröße beobachtet. Nach Injektion von 0,1 mg Pervitin pro kg stiegen in einem von vier Versuchen Frequenz und Volumen des einzelnen Atemzuges von der zweiten Stunde nach der Injektion, so daß die Atemgröße nach weiteren $1^1/_2$ Stunden um über das Dreifache der Norm zugenommen hatte. In einem weiteren Versuch zeigte sich von der dritten Stunde nach der Injektion an eine Zunahme von Frequenz und Volumen. Die Atemgröße stieg um etwa 80% über die Norm. In den beiden übrigen Fällen blieb die Atemgröße normal, oder nahm nur sehr wenig zu.

Auch nach der Injektion von 0,05 mg Pervitin pro kg wurde eine Erhöhung der Atemgröße beobachtet. Sie trat in 3 von 4 Fällen auf, und zwar in einem Fall bei einem sehr unruhigen Tier unmittelbar nach der Injektion. Das Tier starb 45 Minuten nach der Einspritzung. Die Atemgröße war über das Doppelte der Norm gestiegen. In den beiden anderen Versuchen hatte die Atemgröße wie nach den Versuchen mit 0,1 mg pro kg erst im Verlaufe der zweiten bis dritten Stunde nach der Injektion maximal um 50 bzw. 300% der Norm zugenommen. In einem weiteren Versuch blieb die Atemgröße gegenüber der Norm unverändert.

Durch 0,01 mg Pervitin pro kg Meerschweinchen wurde die Atmung nicht mehr beeinflußt.

Tabelle 4.

Zahl der Tiere	Dosis in mg pro kg Meerschweinchen	Atemgröße	Atemfrequenz	Volumen des einzelnen Atemzuges
8	20	+ 145	+ 92	+ 15
5 (2)	10	− 35 (+ 111)	+ 31 (+ 31)	− 41 (+ 9)
6	5	− 25	+ 6	− 28
4	1	− 16	+ 2	− 18
5	0,5	− 7	+ 16	− 19
5	0,1	+ 24	+ 19	+ 3
4	0,05	+ 49	+ 40	+ 9

In der Tabelle 4 ist das Ergebnis der Untersuchung der Wirkung der verschiedenen Pervitindosen auf die Atmung des Meerschweinchens zusammengefaßt, und zwar sind die Durchschnittswerte aller Versuche jeder Gabengruppe während der gesamten Beobachtungszeit ermittelt. So wie es oben für die Ratten gezeigt wurde, geben die Zahlen in Prozenten mit einem + oder − versehen an, wieweit jeweils die Norm über- oder unterschritten wurde. Aus der Tabelle geht hervor, daß im Gegensatz zu den

Versuchen an Ratten, am Meerschweinchen eine deutliche Abhängigkeit der Pervitinwirkung auf die Atmung von der Gabengröße besteht, trotz großer individueller Verschiedenheit der Tiere. Den großen Dosen, 20,0 mg und gegebenenfalls auch 10,0 mg Pervitin pro kg, kommen erregende Wirkung auf die Atmung zu. 5,0, 1,0 und 0,5 mg pro kg lähmen entsprechend der Gabengröße das Atemzentrum, während bei den kleinen Dosen sich wiederum eine erregende Wirkung geltend machen kann, die aber im allgemeinen nicht so ausgesprochen ist wie die nach 20,0 mg Pervitin pro kg, vor allem nicht in jedem Fall hervorzurufen ist. Hinsichtlich der Beeinflussung der Motilität durch Pervitin treten nach 20,0 und 10,0 mg pro kg die oben geschilderten krampfartigen Erscheinungen auf.

In der Mehrzahl der Fälle, in denen 10,0 mg Pervitin pro kg injiziert wurden, und bei allen Tieren, die 5,0, 1,0 und 0,5 mg Pervitin pro kg erhalten hatten, kann man beobachten, daß namentlich sehr lebhafte Tiere durch das Pervitin in ihren Bewegungen gelähmt werden. Sie erscheinen völlig erschlafft, zuweilen ertragen sie Seitenlage. Das ist bei allen genannten Dosen möglich. Zu ganz verschiedenen Zeiten, 10 Minuten bis $3^1/_2$ Stunden nach der Injektion, treten meist Kopf-, Zungen- und Körperbewegungen auf, wie sie oben beschrieben wurden, im allgemeinen von kurzer Dauer, mehrfach während eines Versuchs sich wiederholend. Während dieser Anfälle ist die Atmung unregelmäßig, es wechseln Frequenz und Volumen, Einzelheiten werden aus photographisch aufgenommenen Atemkurven deutlich. Auch Exophthalmus, Augentränen, Herabsetzung bzw. Aufhebung der Kneif- und Cornealreflexe wurden beobachtet. Werden die Tiere nach dem Versuch aus dem Kasten herausgenommen, so bleiben sie wie im Schlaf mitten auf dem Tisch sitzen, was bei normalen Meerschweinchen nie der Fall ist, denn diese befinden sich stets in lebhafter Bewegung. Aus diesem schlafähnlichen Zustand kann das Tier durch Berührungs- oder akustische Reize geweckt werden. Der Gang ist dann unsicher, aber das Tier läuft überraschend schnell über den Tisch und schießt wie blind über den Tischrand hinaus, so daß es auf den Fußboden hinabstürzt. Es rennt ebenso unmittelbar gegen die Wand. Man kann auch aus diesem Grunde auf Sehstörungen schließen.

So wechselnd wie die Atmung nach Injektion von 0,1 und 0,05 mg Pervitin pro kg beeinflußt wird, so verhält es sich auch mit der Motilität. Bei den genannten Gaben von 0,1 und 0,05 mg Pervitin pro kg steht die motorisch erregende Wirkung des Pervitins im Vordergrund, daneben finden sich aber auch Zeichen der Lähmung und der oben geschilderte Schlafzustand, aus dem die Tiere erweckt, blitzartig über den Tisch hinausschießen oder gegen die Wand rennen.

Sehr ähnliche Bewegungsstörungen wurden auch nach 0,01 mg Pervitin pro kg Meerschweinchen festgestellt, also nach Dosen, welche die Atmung nicht mehr beeinflussen. Bei allen übrigen Dosen ist sonst zu

beobachten, daß das Pervitin beim Meerschweinchen im Gegensatz zu den Versuchen an Ratten die Motilität in ähnlichem Sinne beeinflußt wie die Atmung.

Um auch beim Meerschweinchen über die Besonderheiten der normalen und der Atmung unter der Pervitinwirkung Aufschluß zu erhalten, wurden eine Reihe von Atemkurven ähnlich wie bei den Ratten aufgenommen.

Die Messungen an einer größeren Zahl von Meerschweinchen ergaben für die normale Atmung gegenüber den an Ratten ermittelten Werten eine bedeutend größere Schwankungsbreite. Sie betrug für die absolute Sauggeschwindigkeit 4,8—16, für den Quotienten Ausatmungszeit/Einatmungszeit 1—3. Beim einzelnen Tier sind unter den gleichen Bedingungen die Schwankungen der Werte für die absolute Sauggeschwindigkeit und den Quotienten Ausatmungszeit/Einatmungszeit wesentlich geringer.

Als Beispiel sei im folgenden die Wirkung von Pervitindosen von 20,0 mg pro kg Meerschweinchen wiedergegeben, wie sie sich nach den photographisch aufgenommenen Atemkurven darstellen. Einem Meerschweinchen von 490 g Gewicht waren 20,0 mg Pervitin pro kg subcutan injiziert worden. 30 Minuten nach der Injektion stieg die Frequenz von 117 auf 200, die Volumina nahmen bis auf das $3^1/_2$fache der Norm zu. Es wechseln Atemvolumina von 6—7,7 ccm mit solchen von 2,2—5 ccm. Am normalen Tier betrug das Volumen des einzelnen Atemzuges 2,35 ccm. Die Atemgröße ist maximal von 275 auf 970 gestiegen, die absolute Sauggeschwindigkeit über 47 gegenüber 9—10 am normalen Tier. Der Quotient Ausatmungszeit/Einatmungszeit entspricht der Norm, er beträgt 1,2—1,3.

Bei anderen Aufnahmen zeigte sich, daß der Quotient Ausatmungszeit/Einatmungszeit auch unter der Pervitinwirkung am Meerschweinchen auf etwa 2—3 zunehmen konnte. Im Gegensatz aber zu den Beobachtungen an Morphinmäusen (Blume[6], a. a. O.) waren jedoch absolute wie relative Sauggeschwindigkeit gleichzeitig gestiegen.

Im weiteren Verlauf der Pervitinwirkung werden auf der photographisch aufgenommenen Atemkurve nach 20,0 mg Pervitin pro kg deutliche Ermüdungserscheinungen sichtbar, die bei der einfachen Beobachtung kaum festzustellen sind. So zeigt sich z. B. 1 Stunde nach der Injektion von 20,0 mg Pervitin pro kg eine Atemgröße, die infolge Steigerung von Volumen des einzelnen Atemzuges und der Frequenz mehr als das Doppelte der Norm beträgt. Die absolute Sauggeschwindigkeit hat mehr als den sechsfachen Wert der Norm erreicht, jedoch sind schon die Ausatmungszeiten bzw. Atempausen bis zu 0,5 Sekunden verlängert. Der Quotient Ausatmungszeit/Einatmungszeit ist auf 6 gestiegen. Kurz vor dem Tode sinken Volumen, Frequenz, und die Atemgröße beträgt ein Viertel bzw. ein Drittel der Norm, die Ausatmungszeiten nehmen bis zu 1,1 Sekunden zu, aber die absolute Sauggeschwindigkeit bleibt um das Doppelte gegenüber der Norm erhöht.

Unter der Wirkung hoher Pervitindosen wie 20,0 mg pro kg Meerschweinchen wachsen die Frequenz und das Volumen des einzelnen Atemzuges und damit die Atemgröße. Die absolute und relative Sauggeschwindigkeit nehmen bedeutend zu, während der Quotient Ausatmungszeit/Einatmungszeit sich nur wenig gegenüber der Norm ändert, indem er etwas zu- oder abnimmt. Erst mit fortschreitender Pervitinwirkung wachsen die Ausatmungszeiten bzw. Atempausen und damit der Quotient Ausatmungszeit/Einatmungszeit. Die absolute Sauggeschwindigkeit bleibt bis zuletzt gegenüber der Norm erhöht, während kurz vor dem Tode die Atemgröße und damit die relative Sauggeschwindigkeit sinkt.

Die erregende bzw. erregbarkeitssteigernde Wirkung, die den sehr kleinen Dosen von 0,1 und 0,05 mg Pervitin pro kg Meerschweinchen auf die Atmung zukommt, ist nicht bei jedem Tier zu erhalten. Nur ausnahmsweise wird die Atmung ähnlich beeinflußt, wie es nach den Kurven bei Anwendung von Gaben von 20,0 mg pro kg Meerschweinchen geschildert wurde.

Dem Pervitin kommt sonst am Meerschweinchen bei Dosen von 10,0—0,5 mg pro kg eine deutlich lähmende Wirkung auf die Atmung zu. Nach den photographisch aufgenommenen Atemkurven können wir den folgenden aus einer Reihe ähnlich verlaufenen Versuche als Beispiel anführen: Ein Meerschweinchen von 424 g Gewicht zeigt eine normale Atmung von 76 Atemzügen pro Minute mit einem durchschnittlichen Volumen des einzelnen Atemzuges von 2,6. Die Atemgröße betrug demnach 198, die absolute Sauggeschwindigkeit beläuft sich auf 8,2, der Quotient Ausatmungszeit/Einatmungszeit auf 1,35.

46 Minuten nach der Injektion von 5,0 mg Pervitin pro kg sinkt das Volumen des einzelnen Atemzuges auf durchschnittlich 0,7, so daß die Atemgröße 54 beträgt, die absolute Sauggeschwindigkeit 2,3, der Quotient Ausatmungszeit/Einatmungszeit 1,75. Die einzelnen Atemvolumina schwanken nur in engen Grenzen, während die absolute Sauggeschwindigkeit periodisch steigt und fällt.

Dieses Bild der Atemkurve des Meerschweinchens ist vorwiegend nach Dosen von 10,0—0,5 mg Pervitin pro kg zu erhalten. Einige Kontrollversuche, die später mit 20,0 mg Pervitin pro kg angestellt wurden, zeigten, daß ausnahmsweise auch bei diesen hohen Dosen als Ausdruck einer Ermüdung des Atemzentrums ähnliche Kurven zu erhalten sind.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Aus den vorliegenden Versuchen geht hervor, daß die Pervitinwirkung auf die Atemgröße an Ratten bei 0,5 mg Pervitin pro kg beginnt, beim Meerschweinchen schon bei 0,05 mg Pervitin pro kg. Bei Ratten sowohl wie bei Meerschweinchen ist aber eine Wirkung auf die Motilität bereits bei wesentlich geringeren Dosen zu erkennen, so bei der Ratte nach 0,05 mg Pervitin pro kg, beim Meerschweinchen nach 0,01 mg Pervitin pro kg.

Die Atmung wird also nicht von vornherein durch das Pervitin beeinflußt, es besteht vielmehr ein Spielraum zwischen den Dosen, denen eine Wirkung auf die Motilität zukommt und denen, welche die Atemgröße beeinflussen. Bei der Ratte ist die zehnfache, beim Meerschweinchen nur die fünffache Schwellenwertdosis des Pervitins notwendig, um eine deutliche Wirkung auf die Atemgröße hervorzurufen. Das ist auch der Fall beim Morphin, dessen Wirkung auf die Atmung bekanntlich viel stärker hervortritt als die des Pervitins. Vergleichen wir die Dosen, die gerade an der Maus imstande sind, die Schwanzreaktion nach Straub[17] hervorzurufen mit den Dosen, welche die Atemgröße deutlich beeinflussen (Blume[6], a. a. O.), so liegen hier die Verhältnisse ähnlich. Als unterste wirksame Menge die Schwanzreaktion bei der Maus zu erzeugen, sind nach Führer[18] 0,01 mg salzsauren Morphins bei einer Maus von 20,0 mg Gewicht notwendig, das entspricht einer Dosis von 0,5 mg Morphin pro kg Maus. Die wirksamen Gaben, die Atemgröße zu beeinflussen, liegen nach unseren früheren Untersuchungen bei 2,5 mg pro kg, also um das Fünffache höher, ähnlich wie beim Meerschweinchen und den entsprechenden Pervitindosen. Nach unseren Versuchen ist das Atemzentrum des Meerschweinchens erheblich empfindlicher gegenüber dem Pervitin als das der Ratte.

Die vorliegenden Versuche zeigen weiter, daß neben der Wirkung des Pervitins auf die Atmung auch die auf die Motilität bei Ratten wie bei Meerschweinchen bestehen bleibt, daß aber die Beeinflussung der Motilität wie die der Atmung bei den beiden Tierarten grundsätzlich verschieden ist. An der Ratte wird nach unseren Versuchen die Motilität durch Pervitin entsprechend der Dosis gesteigert, während die Wirkung auf die Atemgröße von den Pervitingaben weitgehend unabhängig ist, wie oben gezeigt wurde. Am Meerschweinchen dagegen besteht eine deutliche Abhängigkeit der Wirkung auf die Atmung von der Gabengröße. Den sehr großen wie den sehr kleinen Gaben kommt zwar eine erregende Wirkung zu, die aber bei den großen Gaben ausgesprochener ist als bei den kleinen. Nach den Dosen von 10,0, 5,0, 1,0 und 0,5 mg Pervitin pro kg erfolgt eine Herabsetzung der Atemgröße des Meerschweinchens, die bei 10,0 mg am stärksten ist und nach unseren Versuchen stufenweise über 5,0, 1,0 bis 0,5 mg Pervitin pro kg entsprechend abnimmt. Beim Meerschweinchen wird auch die Motilität im gleichen Sinne wie die Atmung beeinflußt. Bei den Gaben, denen eine starke Wirkung auf die Motilität zukommt, steigt auch die Atemgröße und umgekehrt.

Wieweit neben der Gabengröße auch die Konzentration des angewandten Pervitins für die Wirkung auf das Atemzentrum von Bedeutung ist, wäre noch zu untersuchen.

Überblicken wir die Wirkung des Pervitins auf die Atmung des Meerschweinchens, so ergibt sich eine bemerkenswerte Ähnlichkeit mit der

[17] Straub, W.: Dtsch. med. Wschr. Jg. 37, S. 1462 (1911). — [18] Führer, H.: Abderhaldens Handb., Abt. IV, Teil 7, S. 587.

Wirkung des Morphins auf die Atmung allgemein, insbesondere die der Maus, die früher untersucht wurde (Blume[6], a. a. O.). Ebenso wie nach kleinen Gaben Pervitin an Meerschweinchen wurde auch nach kleinen Morphindosen eine erregende Wirkung auf die Atmung an Menschen beobachtet (Fränkel[19]), ferner am Kaninchen (Blume[20]) und an der Maus stellte Pulewka[21] im Gaswechselversuch unter der Morphinwirkung eine den Sauerstoffverbrauch wesentlich übersteigende Ausscheidung von Kohlensäure fest. Eigene Versuche ergaben nur zuweilen eine Erhöhung der Atemfrequenz an der Maus, ohne daß die Atemgröße zunahm. Es folgen dann weiter, entsprechend den Dosen von 10,0—0,5 mg Pervitin pro kg am Meerschweinchen, welche die Atemgröße herabsetzen, die Morphingaben, denen die bekannte lähmende Wirkung auf das Atemzentrum zukommt. Es besteht nur insofern ein Unterschied, als die Wirkung des Morphins nach Intensität und Dauer der Wirkung auf die Atmung innerhalb eines Gabenbereichs von 2,5—10,0 mg pro kg an Mäusen dieselbe ist (Blume[6], a. a. O.). Schließlich entsprechen den die Atmung erregenden Pervitindosen von 20,0 mg pro kg am Meerschweinchen die krampfmachenden Morphindosen an Mäusen, welche ebenfalls die Atemgröße steigern (Blume[6], a. a. O.). Bemerkenswert ist aber, daß die krampferregende Wirkung großer Morphingaben auf die Atmung der Maus viel später nach der Injektion eintritt als die des Pervitins beim Meerschweinchen (vgl. hierzu auch Blume[22]).

Wieweit außer der Atemgröße die Aufeinanderfolge der einzelnen Atemvolumina, Sauggeschwindigkeit, Quotient Ausatmungszeit/Einatmungszeit, durch das Pervitin und das Morphin beeinflußt werden, darüber kann erst die Vergleichung der photographisch aufgenommenen Atemkurven Auskunft geben. Hierzu sollen die Morphinkurven der Maus, die früher aufgenommen wurden (Blume[6], a. a. O.), herangezogen und den am Meerschweinchen mit Pervitin erhaltenen gegenübergestellt werden, und zwar einerseits die atemlähmende Pervitinwirkung am Meerschweinchen und die atemlähmende Morphinwirkung an der Maus (Blume[6], a. a. O.), S. 394), andererseits die erregende Pervitinwirkung auf die Atmung des Meerschweinchens und die erregende Morphinwirkung auf die Atmung der weißen Maus (Blume[6], a. a. O., S. 397).

Die Atemvolumina sind in ihrer Aufeinanderfolge und ihrer Größe noch besser zu beurteilen, wenn man sie nebeneinander, auf derselben gemeinsamen Grundlinie angeordnet, betrachten kann. Dasselbe ist auch der Fall für die Sauggeschwindigkeit der einzelnen Atemzüge. Zur besseren Übersicht sind daher die Auswertungsergebnisse der entsprechenden Atemkurven mit den dazugehörenden normalen Atemkurven des Meerschwein-

---

[19] Fränkel, A.: Münch. med. Wschr. Nr. 46, S. 154 (1899). — [20] Blume, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **133**, 213 (1928). — [21] Pulewka, P.: Ebenda **123**, 259 (1927). — [22] Blume, W.: Ebenda **119**, 24 (1926).

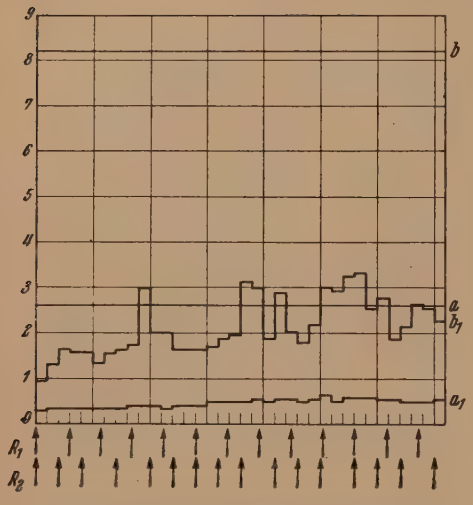


Abb. 1a. Graphische Darstellung der lähmenden Wirkung des Pervitins auf die Atmung des Meerschweinchens. Erläuterungen siehe Text.

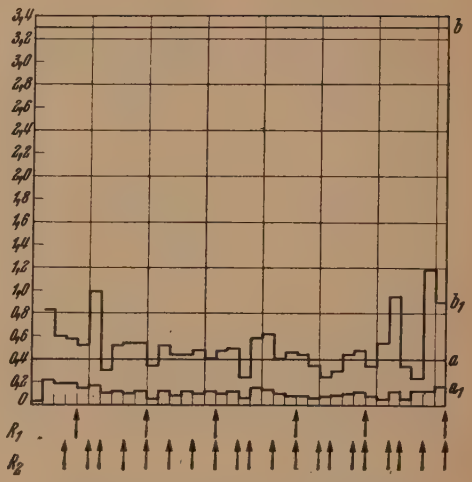


Abb. 1b. Graphische Darstellung der lähmenden Wirkung des Morphins auf die Atmung der weißen Maus. Erläuterungen siehe Text.

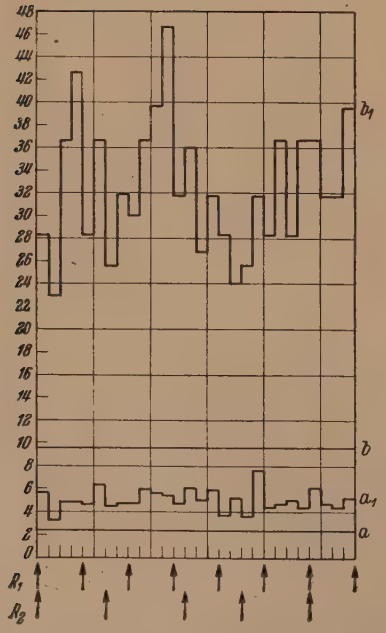


Abb. 2a. Graphische Darstellung der erregenden Wirkung des Pervitins auf die Atmung des Meerschweinchens. Erläuterungen siehe Text.

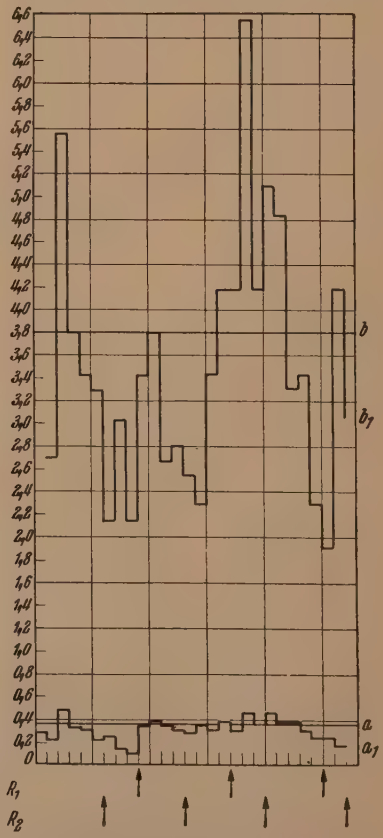


Abb. 2b. Graphische Darstellung der erregenden Wirkung des Morphins auf die Atmung der weißen Maus. Erläuterungen siehe Text.

chens (Abb. 1a und 2a) und der weißen Maus (Abb. 1b und 2b) graphisch dargestellt. In den Abb. 1a, 1b, 2a, 2b gibt die Linie a die Durchschnittsvolumina der einzelnen normalen Atemzüge wieder, und zwar bei Abb. 1a und 2a vom Meerschweinchen, bei Abb. 1b und 2b von der Maus. Sie sind ziemlich gleichmäßig und daher schematisch als gerade Linie gezeichnet. Nach Abb. 1a und 2a beträgt das Durchschnittsvolumen des einzelnen normalen Atemzuges der beiden Meerschweinchen 2,6 bzw. 2,4 ccm pro Atemzug, das der Maus nach Abb. 1b und 2b 0,4 bzw. 0,36 ccm. Jeder Atemzug ist auf der Abszisse durch zwei kleine Striche gezeichnet. Die Zwischenräume zwischen zwei kleinen Pfeilen unmittelbar unter der Abszisse, Reihe 1 (auf der Abbildung R_1) bezeichnen die Zeit von 2 Sekunden. Die Linie b gibt die durchschnittliche absolute Sauggeschwindigkeit der betreffenden normalen Atemzüge wieder. Sie ist ziemlich regelmäßig und daher ebenfalls wie für die Volumina schematisch als gerade Linie gezeichnet. Sie beträgt bei den normalen Meerschweinchen (Abb. 1a und 2a) 8,2—9,6, bei der Maus (Abb. 1b und 2b) 3,3 bzw. 3,8. Die Linie a_1 gibt in Abb. 1a und 2a die unter Pervitinwirkung geförderten Atemvolumina des Meerschweinchens, in den Abb. 1b und 2b die unter Morphinwirkung geförderten Atemvolumina der weißen Maus wieder. Die Linie b_1 in den Abb. 1a, 1b, 2a, 2b bezeichnet die jedem Atemzug eigene absolute Sauggeschwindigkeit. Der jedem Atemzug zugehörende Wert der absoluten Sauggeschwindigkeit wird aus der photographisch aufgenommenen Atemkurve erhalten, indem man den Hüpferweg nach oben und unten bis zur oberen bzw. unteren Abstandslinie verlängert. Der Hüpferweg bildet die Hypothenuse eines rechtwinkligen Dreiecks, dessen eine Kathete das Gesamtvolumen darstellt, bei den Meerschweinchenkurven 30 ccm, bei den Mäusekurven 6 ccm; dessen andere Kathete die Zeit in Sekunden wiedergibt. So wird je nach der Neigung des Hüpferweges zur Horizontalen ein großer oder kleiner Wert für die absolute Sauggeschwindigkeit V/t erhalten, der jeweils durch Linie b_1 dargestellt wird. Zu den Linien a_1 und b_1 gehören die Pfeile der zweiten Reihe (auf den Abbildungen R_2), deren Abstände ebenfalls je 2 Sekunden bedeuten.

Vergleichen wir Abb. 1a, welche die Wirkung von 5,0 mg Pervitin auf die Atmung des Meerschweinchens wiedergibt, mit der Abb. 1b, welche die Wirkung von 200,0 mg Morphin pro kg auf die Atmung der Maus veranschaulicht, so zeigt sich, daß sowohl durch Pervitin am Meerschweinchen, wie durch Morphin an der Maus nicht nur die Atemvolumina erheblich herabgesetzt werden gegenüber der Norm, sondern auch die Sauggeschwindigkeit. Die absolute Sauggeschwindigkeit steigt und fällt periodisch in beiden Fällen. Die Schwankungen in der Größe der einzelnen Atemvolumina sind unter Morphin an der Maus größer als unter Pervitin am Meerschweinchen. Die Frequenz der Atemzüge nimmt unter Morphinwirkung an der Maus viel stärker ab als unter der Pervitinwirkung am Meerschweinchen. Es hat sich auch an einer größeren Reihe von Messungen ergeben, daß der Quotient Ausatmungszeit/Einatmungszeit unter der

Pervitinwirkung am Meerschweinchen nie so wächst, wie es an der Maus für das Morphin beobachtet wurde; wenn man von der Atemveränderung kurz vor dem Tode nach Pervitin absieht.

Viel größere Unterschiede ergeben sich, wenn man nach den Abb. 2a und 2b die Wirkung erregender Pervitindosen auf die Atmung des Meerschweinchens vergleicht mit den erregenden Morphindosen auf die Atmung der weißen Maus. In Abb. 2a ist die Wirkung von 20,0 mg Pervitin pro kg Meerschweinchen auf die Atmung dargestellt, in Abb. 2b die Krampfatmung nach 100,0 mg Morphin pro kg an der weißen Maus. Es zeigt sich, daß unter der Pervitinwirkung nicht nur Frequenz und Volumen der einzelnen Atemzüge bedeutend über die Norm zunehmen, sondern auch in gleicher Weise die Sauggeschwindigkeit, welche bis zum fünffachen Wert der Norm ansteigt. Im Gegensatz hierzu ergibt die Abb. 2b, daß unter Morphinwirkung bei der Krampfatmung der Maus die Frequenz viel weniger wächst, daß auch das Volumen des einzelnen Atemzuges nur kurz über die Norm steigt, ebenso wie die Sauggeschwindigkeit. Sie erreicht bei der Maus noch nicht den doppelten Wert der Norm. Am Meerschweinchen nach Pervitin, wie an der Maus nach Morphin, steigt und sinkt die Sauggeschwindigkeit periodisch. Diese Schwankungen der Sauggeschwindigkeit bewegen sich unter der Wirkung erregender Pervitindosen am Meerschweinchen stets über der Norm (Abb. 2a), während bei der Krampfatmung der Maus nach Morphin die Sauggeschwindigkeit die Norm wechselnd über- und unterschreitet (Abb. 2b).

Durchaus ähnliche Kurven, wie sie hier nach 20,0 mg Pervitin pro kg am Meerschweinchen erhalten wurden, können auch an der Ratte nach Dosen im Bereich von 3,0—0,5 mg pro kg beobachtet werden.

Auffallend ist nach unseren Versuchen die sehr wechselnde Empfindlichkeit namentlich der Meerschweinchen dem Pervitin gegenüber. Wie oben bei den Versuchen geschildert, starb ein Meerschweinchen nach 0,05 mg Pervitin pro kg, während von anderen noch 10,0 mg Pervitin pro kg ertragen wurden. Es handelte sich um ein Tier, das eine besonders starke Erregung nach der sehr kleinen Pervitindosis zeigte. Auch bei den Tieren, die 10,0 mg pro kg bekommen hatten, starben die Meerschweinchen, bei denen die erregende Wirkung auf die Motilität und die Atmung besonders ausgesprochen war, während die übrigen überlebten. Die tödlichen Pervitindosen beginnen nach unseren Versuchen beim Meerschweinchen, von den genannten Ausnahmen abgesehen, bei 10,0 mg pro kg, bei den Ratten mit 2,0 mg Pervitin pro kg nach subcutaner Injektion. Hauschild[1], a. a. O., fand bei einer wesentlich größeren Zahl von Versuchen an Ratten 1,5—2,5 mg Pervitin pro kg als tödliche Dose nach intraperitonealer Injektion.

Was den Angriffsort des Pervitins betrifft, so sprechen unsere Versuche an decerebrierten Ratten dafür, daß es nicht allein am Großhirn, sondern auch an anderen Teilen des Zentralnervensystems seine Wirkung entfaltet,

denn die Atmung wurde an decerebrierten Ratten durch Pervitin in gleicher Weise beeinflußt, wie am intakten Tier. Dem entsprechen auch Versuche von Schulz und Deckner[23], welche an den Hirnaktionsströmen von Kaninchen zeigten, daß Pervitin Rinden- wie Hirnstammtätigkeit in gleicher Weise aktiviert. Allerdings müssen wir berücksichtigen, daß das Elektroencephalogramm keinen Aufschluß darüber gibt, ob es sich um eine direkte Wirkung auf die Ganglienzellen handelt oder eine indirekte über den Kreislauf, den Stoffwechsel oder die innersekretorischen Drüsen. Vergleiche hierzu Kreienberg[24].

Die Frage, warum dem Pervitin auf die Atmung der Ratte eine vorwiegend erregende, auf die des Meerschweinchens eine vorwiegend lähmende zukommt, ist zur Zeit noch nicht zu beantworten. Wohl kennen wir zahlreiche Analogien, von denen einige angeführt seien. Wir wissen z. B., daß durch Morphin an Mäusen und Katzen die Motilität im allgemeinen gesteigert, an Menschen und Hunden dagegen herabgesetzt wird. Es ist weiterhin bekannt, daß Coffein an Wasserfröschen Krämpfe hervorruft, die an Grasfröschen gegenüber einer charakteristischen Muskelwirkung zurücktreten (Schmiedeberg[25], Jacobj und Golowinski[26,27]). Strychnin erzeugt an Wirbeltieren die bekannte Reflexsteigerung und Tetanus, an Wirbellosen beobachtet man fast ausschließlich eine lähmende Wirkung auf das Zentralnervensystem (Blume[28]). In ähnlicher Weise entfaltet das Curarin an Fröschen und Kaninchen die bekannte Nervenendwirkung, an Meerschweinchen, Ratten und Mäusen ruft es dagegen Krämpfe hervor (Blume[29]). Die Klärung dieser Zusammenhänge, wie der durch die vorliegenden Untersuchungen aufgeworfenen Frage, nach der verschiedenen Wirkung des Pervitins auf die Atmung der Ratte und des Meerschweinchens ist Aufgabe eines Arbeitsgebietes, auf das Führer zuerst aufmerksam gemacht hat, einer künftigen vergleichenden Pharmakologie (Führer[30], Blume[28]).

Zusammenfassung.

Die vorliegenden Versuchsergebnisse stützen sich auf Versuche an 40 Ratten und 62 Meerschweinchen.

Das Volumen des einzelnen Atemzuges der Ratte beträgt 1,5 bis 2,5 ccm, die Atemgröße 200—350 ccm. Das Volumen des einzelnen Atemzuges und die Atemgröße nehmen entsprechend dem Gewicht zu, die Frequenz dagegen ab.

---

[23] Schulz, F., u. S. Deckner: Z. Neur. **172**, 694 (1941). — [24] Kreienberg, W.: Klin. Wschr. Nr. 14, S. 328 (1942). — [25] Schmiedeberg, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **2**, 62 (1873). — [26] Jacobj, C. u. Golowinski: Ebenda **59**, Suppl.-Bd., S. 286 (1908). — [27] Golowinski, J. W.: Pflügers Arch. **160**, 205 (1915). — [28] Blume, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **149**, 129 (1930). — [29] Blume, W.: Ebenda **175**, 745 (1934). — [30] Führer, H.: Ebenda **166**, 437 (1932).

Dosen von 0,05 und 0,1 mg Pervitin pro kg Ratte führen zu einer Steigerung der Motilität, ohne die Atemgröße zu beeinflussen.

Dosen von 0,5, 1,0, 1,5, 2,0, 2,5 und 3,0 mg Pervitin pro kg Ratte entfalten eine erregende Wirkung auf die Motilität und die Atmung.

Die erregende Wirkung auf die Motilität steigt mit der Gabengröße, während die Wirkung auf die Atemgröße mit der Dosis nicht zunimmt.

Die Atemfrequenz nimmt stärker zu als das Volumen des einzelnen Atemzuges.

Nach Dosen von 1,5 mg Pervitin pro kg bis zu 3,0 mg Pervitin pro kg wurden auch Krämpfe beobachtet.

Die absolute Sauggeschwindigkeit bewegt sich bei der normalen Ratte zwischen 8,4—12. Der Quotient Ausatmungszeit/Einatmungszeit schwankt zwischen 1,4 und 2.

Für die Pervitinwirkung an der Ratte sind charakteristisch die Aufeinanderfolge verhältnismäßig kleiner und großer Atemzüge, ferner die hohe absolute Sauggeschwindigkeit, die bis über 30 steigen kann und periodisch fällt, aber stets über der Norm bleibt.

Der Quotient Ausatmungszeit/Einatmungszeit bewegt sich unter der Pervitinwirkung an der Ratte um die Normalwerte, er kann aber bis zu 1 und weniger herabsinken und höchstens bis 3 steigen, im Gegensatz zu den hohen Werten, die früher nach Morphin an Mäusen erhalten wurden.

Am Meerschweinchen schwankt das Volumen des einzelnen normalen Atemzuges zwischen 2,5 und 3,8 ccm. Die Atemgröße zwischen 200 und 260.

Das Volumen des einzelnen Atemzuges und die Atemgröße nahmen entsprechend dem Gewicht zu, die Frequenz ab. Das Wachsen der Atemgröße mit dem Gewicht ist viel geringer beim Meerschweinchen als bei Ratten.

Die Atemfrequenz des Meerschweinchens liegt um durchschnittlich 50 % unter der der Ratte. Die Atemgröße des Meerschweinchens ist daher kleiner als die der Ratte.

Großen Pervitindosen von 20,0 mg pro kg kommt eine erregende Wirkung auf die Atmung des Meerschweinchens zu. Die Atemgröße wird um über 100 % über die Norm gesteigert. Es steigt wie bei der Ratte vielmehr die Frequenz als das Volumen des einzelnen Atemzuges.

Dosen von 10,0, 5,0, 1,0 und 0,5 mg Pervitin pro kg lähmen entsprechend der Gabengröße das Atemzentrum des Meerschweinchens. (Die Herabsetzung der Atemgröße erfolgte maximal nach 10,0 mg Pervitin pro kg bis auf 30 %, nach 5,0 mg Pervitin pro kg auf 50 %, nach 1,0 mg Pervitin pro kg bis auf 70 % der Norm.)

Nach 0,1 und 0,05 mg Pervitin pro kg kann sich am Meerschweinchen eine erregende Wirkung auf die Atmung geltend machen.

Tritt eine erregende Wirkung auf die Atmung auf, so wächst die Frequenz stärker als das Volumen des einzelnen Atemzuges. Bei den

lähmenden Dosen nimmt die Frequenz viel weniger ab als das Volumen des einzelnen Atemzuges, ja steigt sogar über die Norm.

Im Gegensatz zu den Beobachtungen an der Ratte wird beim Meerschweinchen die Motilität im selben Sinne beeinflußt wie die Atmung.

Die absolute Sauggeschwindigkeit schwankt an normalen Meerschweinchen zwischen 5—16, also in viel weiteren Grenzen als bei der Ratte.

Der Quotient Ausatmungszeit/Einatmungszeit bewegt sich zwischen 1—3.

Unter der Wirkung erregender Pervitindosen wechseln sehr große Atemvolumina, die die Norm um mehr als das Dreifache übersteigen, mit kleineren, die etwa normalen Atemzügen entsprechen.

Die absolute Sauggeschwindigkeit steigt unter der Pervitinwirkung am Meerschweinchen über 40. Sie nimmt periodisch zu und ab, bleibt aber immer höher als die Norm. Der Quotient Ausatmungszeit/Einatmungszeit ist gegenüber der Norm zunächst nicht verändert. Erst bei längerer Wirkung großer Pervitindosen nehmen die Ausatmungszeiten zu, aber die absolute Sauggeschwindigkeit bleibt erhöht.

Unter der Wirkung atemlähmender Pervitindosen sinkt die absolute Sauggeschwindigkeit der Meerschweinchenatmung weit unter die Norm. Der Quotient Ausatmungszeit/Einatmungszeit bleibt in normalen Grenzen, im Gegensatz zu den Beobachtungen an der Mausatmung unter der Morphinwirkung.

An Hand graphischer Darstellungen der Auswertungsergebnisse der entsprechenden Atemkurven werden die Pervitinwirkung auf die Atmung des Meerschweinchens und der Ratte mit der der Morphinwirkung auf die Atmung der Maus verglichen.

Die Empfindlichkeit der einzelnen Tiere gegenüber dem Pervitin ist namentlich beim Meerschweinchen recht verschieden.

Aus Versuchen an decerebrierten Ratten wird geschlossen, daß das Pervitin an allen Teilen des Zentralnervensystems angreift.

Aus dem Pharmakologischen Institut der kgl. ung. Tisza István Universität Debrecen.
(Direktor: Dr. E. Jeney, ord. öffentl. Prof.)

Herstellung und pharmakologische Prüfung von Azetylcholinphosphat und β-glycerinphosphorsaurem Azetylcholin.

Von

T. Vályi Nagy und I. Mihalik.

Mit 8 Textabbildungen (75 Einzelbildern).

(Eingegangen am 5. Februar 1943.)

Aus den Untersuchungen von Contardi und Ercoli (1) ist der fermentative Lecithinabbau bekanntgeworden; dieser findet in zwei Phasen statt: Unter der Wirkung der Lecithase „A" entstehen Lysolecithin und eine ungesättigte Fettsäure, in der zweiten Phase unter der Lecithase „B"-Wirkung eine gesättigte Fettsäure und glycerinphosphorsaures Cholin. Letzteres Produkt wurde 1940 von H. Arnold auch synthetisch hergestellt und auf seine pharmakologischen Eigenschaften geprüft (2). Es hat sich gezeigt, daß die cholinergische Wirksamkeit des glycerinphosphorsauren Cholinesters unverändert war. Jeney und Méhes (3) haben 1935 von den Lecithinabbauprodukten 1. die β-Glycerinphosphorsäure, 2. die Fettsäuren, ferner 3. die Mischung der Fettsäuren und der Glycerinphosphorsäure pharmakologisch untersucht. Die Stoffe wiesen eine blutdrucksenkende und die Adrenalinempfindlichkeit parallel steigernde Wirkung auf. Die 1939 erschienene Arbeit O. Eichlers (4) bedeutete einen weiteren Fortschritt in der Erkenntnis der Lecithinabbauprodukte. Er konnte eine ausgesprochene adrenergische Wirkung des cholinphosphorsauren Natriums sowohl auf den Blutdruck als auch auf die Darmbewegungen nachweisen. Im Jahre 1941 wurde die Wirkung des β-glycerinphosphorsauren Cholinesters auf den Blutdruck der Katze von Jeney, Mihalik und v. Uri (5) untersucht. Die Versuche wurden mit dem synthetischen und dem aus Lecithin mittels Lecithase „B" hergestellten Produkt parallel ausgeführt. Die Ergebnisse gestatten die Folgerung, daß die Wirkung beider glycerinphosphorsaurer Cholinester identisch ist. Wir machten die weiteren Abbauprodukte des β-glycerinphosphorsauren Cholinesters zum Gegenstand unserer Forschungen, und zwar

1. das Cholinphosphat,
2. das Azetylcholinphosphat,
3. das β-glycerinphosphorsaure Cholin,
4. das β-glycerinphosphorsaure Azetylcholin.

Das β-glycerinphosphorsaure Cholin wird im Organismus weiter abgebaut, entweder durch Esterasen oder durch eine spezifische Phosphatasetätigkeit, wodurch äquivalente Mengen von Glycerinphosphorsäure und Cholin entstehen. Es ist anzunehmen, daß das in Esterbindung befindliche Cholin mittels seiner Hydroxylgruppe zur Phosphorsäure oder Glycerinphosphorsäure wieder gebunden wird, so daß im weiteren die Salze der Cholinbase vorhanden sind.

I. Herstellung von Cholinphosphat.

a) Monobasisches Bariumphosphat.

Als Ausgangsverbindung der Cholinphosphatsynthese wurde das monobasische Bariumphosphat angewandt. Die Herstellung dieses Salzes erfolgt aus dem tribasischen Salz, mittels einer stöchiometrisch berechneten Schwefelsäuremenge:

$$Ba_3(PO_4)_2 + 2\,H_2SO_4 = BaH_4(PO_4)_2 + 2\,BaSO_4.$$

Analyse.

I. 0,1 g Substanz: $BaSO_4 = 0{,}0702$ g $= 0{,}041296$ g Ba $= 41{,}296\,\%$ Ba.
II. 0,1 g Substanz: $BaSO_4 = 0{,}0675$ g $= 0{,}0397079$ g Ba $= 39{,}707\,\%$ Ba.
Berechneter Wert: $= 0{,}041445$ g Ba $= 41{,}445\,\%$ Ba.

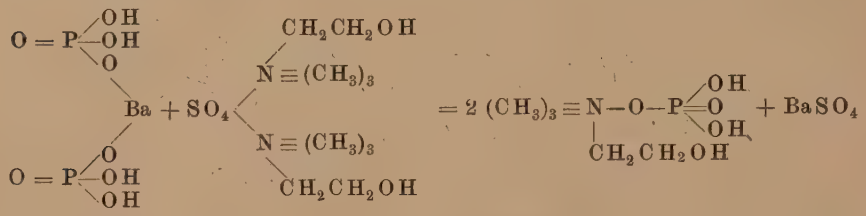
Das als Nebenprodukt der Reaktion entstehende Bariumsulfat wurde durch Zentrifugierung entfernt, das in der Lösung befindliche monobasische Bariumphosphat im Vakuum eingedickt und im Exsikkator bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. So erhielten wir weiße, in Wasser schwer lösliche Kristalle, die in organischen Lösungsmitteln unlöslich, in dem mild angesauerten Wasser einigermaßen löslich sind.

b) Herstellung von Cholinsulfat.

Zur Herstellung des Cholinsulfats wurde von dem im Handel erhältlichen Cholinchlorid ausgegangen, indem dieses Produkt in einer kleinen Wassermenge gelöst und mit einem Überschuß von Ag_2O versetzt wurde. So entstand in der Lösung die freie Cholinbase. Der aus dem überschüssigen Ag_2O und AgCl bestehende Niederschlag wurde abzentrifugiert und die Lösung zur Bestimmung ihres Cholingehaltes mit n/10 Salzsäure in der Anwesenheit von Methylorange als Indikator titriert. Nun haben wir der Lösung eine dem Cholingehalt entsprechende äquivalente Schwefelsäuremenge hinzugefügt, die Lösung über Wasserbad eingedampft und im Vakuumexsikkator bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Um einen zur Synthese hinreichenden Reinheitsgrad zu erzielen, wurde der Stoff noch zweimal durchkristallisiert.

Nach Herstellung dieser zwei Grundsubstanzen waren die Voraussetzungen der Cholinphosphatherstellung gegeben. Wenn nämlich das monobasische Bariumphosphat in einem wässerigen Medium mit der

äquivalenten Cholinsulfatmenge vermengt wird, entsteht Cholinphosphat laut der unten mitgeteilten Formel:



$$1{,}5219\ g\ BaH_4(PO_4)_2 + 1{,}3973\ g\ \text{Cholinsulfat} = 1{,}8476\ g\ \text{Cholinphosphat} + 1{,}0722\ g\ BaSO_4.$$

Ausbeute: 1,5706 g, d. h. 85,01%ige Ausbeute im Verhältnis zum theoretischen Wert.

Analyse.

P-Bestimmung:

Abgewogen 0,2307 mg (in 25 ccm) P = 0,0316 mg = 13,698% P.
Berechnet: P = 0,035596 mg = 15,429% P.

N-Bestimmung:

I. Abgewogen 5,55 mg N = 0,3904 mg = 7,0343% N.
Berechnet: N = 0,38646 mg = 6,9633% N.
II. Abgewogen 6,28 mg N = 0,4291 mg = 6,8877% N.
Berechnet: N = 0,43382 mg = 6,9633% N.

Nach Entfernung des als Nebenprodukt auftretenden Bariumsulfats durch Filtrierung wurde der stark hygroskopische Rückstand aus dem Wasser auskristallisiert und über P_2O_5 im Vakuum bei 40° C getrocknet.

Das erhaltene Produkt besteht aus in Wasser sehr gut löslichen, stark hygroskopischen, ähnlich wie Cholin riechenden weißen Kristallen; seine wässerige Lösung reagiert auf Lackmus sauer.

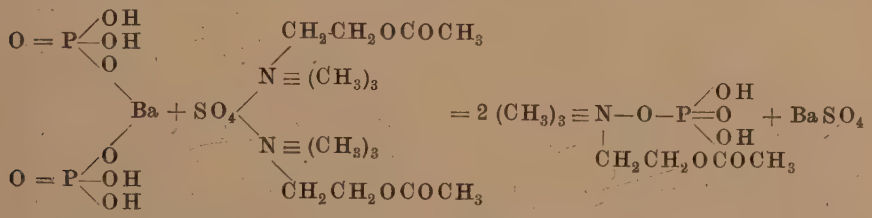
II. Herstellung von Azetylcholinphosphat.

Das Wesen des Verfahrens besteht darin, daß die äquimolaren Lösungen von monobasischem Bariumphosphat und vorher azetyliertem Cholinphosphat vermengt werden. Das ausscheidende Bariumsulfat wird durch Zentrifugieren entfernt.

a) Herstellung von Azetylcholinsulfat.

1 g Cholinsulfat wird mit 1,32 g Azetylchlorid, das vorher in 20 ccm trockenem Chloroform aufgelöst wurde, zusammengebracht (3 Mol Azetylchlorid auf 1 Mol Cholinsulfat). Die Mischung wurde in einen entsprechend großen, mit Rückflußkühler versehenen Kolben gebracht und über Wasserbad 12 Stunden gekocht. Nachdem die Azetylierung beendet war, wurde der Kühler abgenommen und der Kolbeninhalt solange weiter gekocht, bis die als Nebenprodukt entstandene Salzsäure vollkommen abdampfte.

Nun wurde die Lösung eingedampft und 48 Stunden im Vakuumexsikkator bei 60° C gehalten. Schließlich haben wir die Substanz aus wenig Wasser mit Alkohol durchkristallisiert und die erhaltene Verbindung mit dem Merckschen Azetylcholinchlorid biologisch verglichen. Die erwartete Wirkungspotenzierung gegenüber Cholinsulfat liegt tatsächlich vor; in Wirksamkeit ist das Präparat mit dem Merckschen gleichwertig. Die Entstehung des Azetylcholinphosphats erfolgt nach der untenstehenden Gleichung:



1,6582 g $BaH_4(PO_4)_2$ + 1,9429 g Azetylcholinsulfat = 2,4332 g Azetylcholinphosphat + 1,1682 g $BaSO_4$.

Ausbeute: 2,391 g, entsprechend 98,265% der theoretisch berechneten Menge von Azetylcholinphosphat.

Analyse.

P-Bestimmung:

0,263 mg Substanz (in 25 ccm) P = 0,033 97 mg P = 12,916 mg% P.
Berechnet: 0,033 572 mg P = 12,765 mg% P.

N-Bestimmung:

I. 4,591 mg Substanz: N = 0,2694 mg = 5,868 mg% N.
Berechnet: N = 0,26442 mg = 5,7608 mg% N.
II. 3,212 mg Substanz: N = 0,1901 mg = 5,9184 mg% N.
Berechnet: N = 0,18504 mg = 5,7508 mg% N.

Das Azetylcholinphosphat ist eine stark hygroskopische, in Wasser gut lösliche Verbindung. Der Schmelzpunkt des Präparates ist unbestimmt. Die wässerige Lösung reagiert nach Lackmus sauer.

III. Herstellung von β-glycerinphosphorsaurem Cholin.

Die Voraussetzung der Herstellung von β-glycerinphosphorsaurem Cholin war die Herstellung von monobasischer Ba-Glycerinphosphorsäure. Nach der einschlägigen Literatur sind von den alkalischen Erdmetallverbindungen der β-Glycerinphosphorsäure nur die Calciumverbindungen bekannt. Wir haben der Herstellung der monobasischen Ba-Glycerinphosphorsäure die Herstellung des monobasischen Bariumphosphats zugrunde gelegt.

a) Herstellung von monobasischer Ba-Glycerinphosphorsäure.

Die Konzentration der im Verkehr befindlichen β-Glycerinphosphorsäure wurde alkalimetrisch ermittelt und ihre abgewogene Menge mit der

stöchiometrisch entsprechenden Menge von $Ba(OH)_2$ versetzt. Die Reaktion geht entsprechend den folgenden Gleichungen vonstatten:

A. $C_3H_7O_2PO_4H_2 + Ba(OH)_2 = C_3H_7PO_4Ba + 2H_2O$.

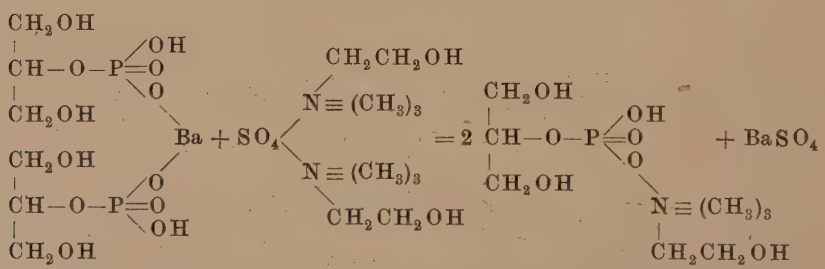
B. $2C_3H_7O_2PO_4Ba + H_2SO_4 = (C_3H_7O_2PO_4H)_2Ba + BaSO_4$.

Analyse.

0,1 g Substanz $BaSO_4$ = 0,0496 g = 0,029178 g Ba = 29,178 g% Ba.
Berechnet: $BaSO_4$ = 0,04869 g = 0,028643 g Ba = 28,643 g% Ba.

Bei der Hinzufügung des $Ba(OH)_2$ entsteht ein schneeweißer, feiner, sich schnell absetzender Pulverniederschlag, die doppelt-basische Ba-Glycerinphosphorsäure. Der Niederschlag wurde filtriert, mit ungefähr 30 ccm Wasser sorgfältig gewaschen und getrocknet. Das für uns wichtige monobasische Produkt wurde aus dem dibasischen nach der Reaktion B. hergestellt. Der hier entstandene $BaSO_4$-Niederschlag wurde separiert, die klare Lösung im Vakuum auf $^1/_4$ Volumen eingedickt und mit einer großen Menge von 96%igem Alkohol vermengt. Der ausscheidende Niederschlag ist das monobasische β-glycerinphosphorsaure Barium. Das primitive Produkt wurde mittels Alkoholfällung wiederholt gereinigt, dann bei 60° C im Vakuum getrocknet. Die Analyse hat die Struktur des erhaltenen Produktes über jeden Zweifel hinaus bestätigt. Die monobasische β-Ba-Glycerinphosphorsäure ist ein weißes, kristallinisches Pulver, das sich in Wasser mit schwach saurer Reaktion leicht löst. Die wässerige Lösung wird bei längerem Stehen in der Luft infolge $BaCO_3$-Bildung trüb.

Die Herstellung des β-glycerinphosphorsauren Cholinesters findet nach folgender Formel statt:



Die an der Reaktion teilnehmenden Komponenten werden in äquimolaren Mengen vermengt und das ausscheidende $BaSO_4$ durch Zentrifugieren entfernt. Die Lösung wird dann im Vakuum auf $^1/_{10}$ Volumen eingedickt. Im weiteren haben wir den Sirup in kaltem Vakuumexsikkator mehrere Tage hindurch stehengelassen, bis er langsam zu einer mild gelblichen kristallischen Masse erstarrte. Diese Handlung haben wir öfters wiederholt und im erhaltenen Produkt P- und N-Bestimmungen durchgeführt. Die Analyse hat ergeben, daß das Produkt β-glycerinphosphorsaures Cholin darstellt.

b) Quantitative Verhältnisse.

3,932 g monobasische Ba-Glycerinphosphorsäure + 2,495 g Cholinsulfat = 4,5131 g β-glycerinphosphorsaures Cholin + 1,9189 g $BaSO_4$.

Ausbeute: 4,123 g β-glycerinphosphorsaures Cholin, entsprechend 91,354% des theoretisch berechneten Ertrages.

Analyse.

P-Bestimmung:

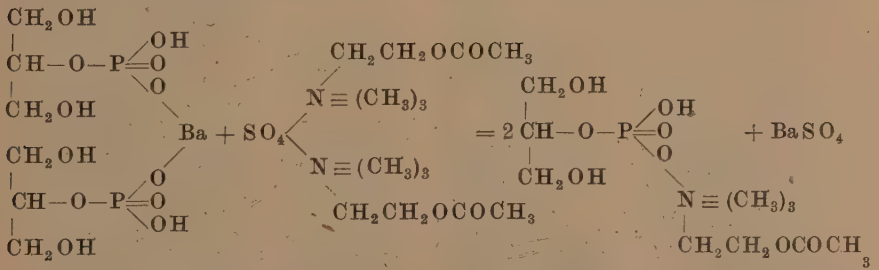
0,2284 mg Substanz (in 25 ccm) P = 0,02599 mg = 11,497 mg% P.
Berechnet: P = 0,025759 mg = 11,278 mg% P.

N-Bestimmung:

I. 5,021 mg Substanz: N = 0,2496 mg = 4,9711 mg% N.
Berechnet: N = 0,2555 mg = 5,0897 mg% N.
II. 7,410 mg Substanz: N = 0,3805 mg = 5,1349 mg% N.
Berechnet: N = 0,37715 mg = 5,0897 mg% N.

IV. Herstellung von β-glycerinphosphorsaurem Azetylcholin.

Die Verbindung wurde, wie aus der untenstehenden Formel hervorgeht, auf Grund der oben besprochenen Prinzipien hergestellt. Der einzige Unterschied bestand darin, daß das monobasische Ba-Salz der β-Glycerinphosphorsäure mit dem aus dem Vorigen schon bekannten Azetylcholinsulfat vermengt wurde.



2,4591 g monobasisches glycerinphosphorsaures Ba + 1,9917 g Cholinsulfat = 3,2534 g β-glycerinphosphorsaures Azetylcholin + 1,1973 g $BaSO_4$.

Ausbeute: 3,012 g β-glycerinphosphorsaures Azetylcholin, entsprechend 92,578% des berechneten Ertrages.

Das β-glycerinphosphorsaure Azetylcholin ist eine weiße, kristallische Verbindung, weniger hygroskopisch als die vorher besprochenen Verbindungen. Die wässerige Lösung der Substanz reagiert sauer. Die durch Analyse ermittelten Werte entsprechen der theoretischen Formel der Verbindung.

Analyse.

P-Bestimmung:

0,1459 mg Substanz (in 25 ccm) P = 0,01467 mg = 10,055 mg% P.
Berechneter Wert: P = 0,014276 mg = 9,7845 mg% P.

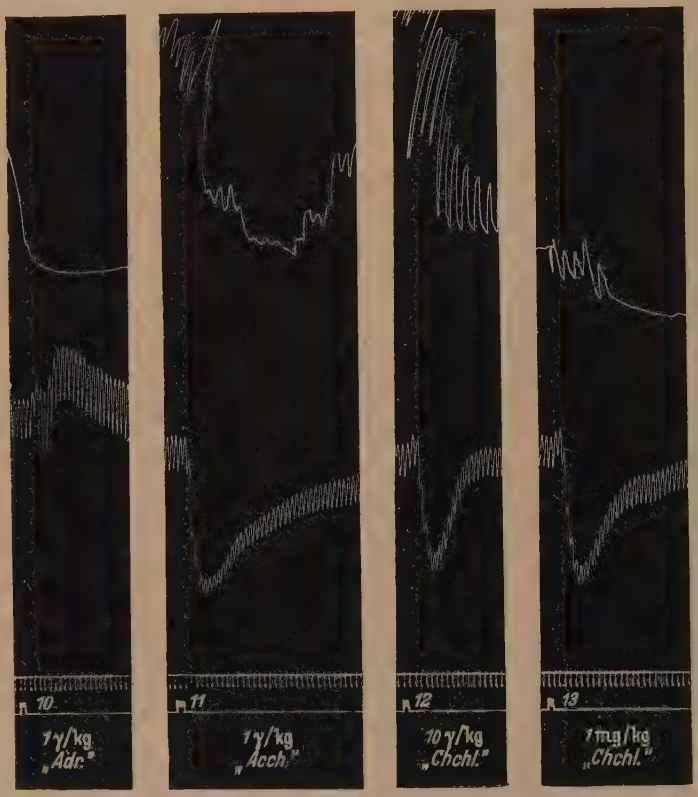
N-Bestimmung:

I. 3,964 mg Substanz: N = 0,1692 mg = 4,2685 mg% N.
Berechnet: N = 0,17504 mg = 4,4157 mg% N.
II. 7,2116 mg Substanz: N = 0,3252 mg = 4,5094 mg% N.
Berechnet: N = 0,31844 mg = 4,4157 mg% N.

Die besprochenen Cholinpräparate sind im allgemeinen leichtlösliche hygroskopische Verbindungen. Ihre wässerigen Lösungen sind schwach sauer oder neutral.

Pharmakologische Untersuchungen.

Die pharmakologische Prüfung der besprochenen Cholinderivate erfolgte am Musc. rectus abdominis-Präparat des Frosches, in Blutdruck-



BOSTON MEDICAL LIBRARY NOV 15 1933

Abb. 1. Katze Nr. 5. Gewicht: 2600 g. Siehe im Text.

versuchen an Katzen und gleichzeitig mit den letzteren wurde auch die Wirkung dieser Stoffe auf die Darmbewegungen beobachtet. Die Blutdruckschwankungen haben wir mit einer Carotiskanüle, die Darmbewegungen mit der Ballonmethode registriert. Die Versuche wurden in Chloralosenarkose ausgeführt. Die verabreichten Cholinderivate wurden in der Weise dosiert, daß sie immer die gleiche Cholinmenge enthielten, so daß die pro kg Körpergewicht dargereichte Menge den Gehalt der betreffenden Verbindung an Cholinbase ausdrückt. Insgesamt 21 Versuche wurden durchgeführt, von denen einige hier angeführt werden.

Abb. 1. Um die Reaktionsbereitschaft des Tieres festzustellen, wurden ihm pro kg Körpergewicht 1 γ Adrenalin („Adr."-Nr. 10) und 1 γ Azetylcholin („Acch."-Nr. 11) gegeben. 1 γ/kg Adr. bewirkte 16 mm Blutdrucksteigerung, 1 γ/kg Acch. 35 mm Blutdrucksenkung. 10 γ/kg Cholinchlorid („Chchl."-Nr. 12) setzten den Blutdruck um 28 mm herab, seine ursprüngliche Höhe wurde aber bald wieder erreicht, während nach 1 mg/kg „Chchl." (Nr. 13) ein 34 mm betragender, verzögerter Blutdruckabfall eintritt,

Abb. 2. Katze Nr. 5. Gewicht: 2600 g.

ungefähr wie nach 1 γ-kg Acch. Gleichzeitig mit der Blutdrucksenkung kann die Erschlaffung der Darmbewegungen beobachtet werden.

Abb. 2. Die Reaktionen Nr. 14 und 15 veranschaulichen die Wirkung von 1 γ/kg bzw. 10 γ/kg Azetylcholinphosphat („Acchph."). 1 γ/kg Acchph. ruft 23 mm Blutdrucksenkung und eine geringe Erschlaffung der Darmbewegungen, 10 γ/kg einen verzögerten Abfall von 32 mm und am Darm eher lebhaftere Bewegungen hervor. 1 γ/kg Cholinphosphat („Chph."-Nr. 16) bewirkt einen kurzdauernden Blutdruckabfall von 20 mm, 10 γ/kg „Chph." (Nr. 17) hat dieselbe Wirkung, aber die Darmbewegungen werden ein wenig lebhafter. 0,1 mg/kg „Chph." (Nr. 18) setzt den Blutdruck

vorübergehend um 30 mm herab, während 1 mg/kg einen verzögerten, 35 mm betragenden Abfall herbeiführt, wobei der Darm erschlafft (Nr. 19). Das Bild stimmt mit den Reaktionen nach 1 γ/kg Acch. und 1 mg/kg Chchl. überein.

Abb. 3. Die Reaktionen Nr. 20 und 21 stellen eine 13 bzw. 17 mm betragende, schnell vorübergehende Blutdrucksenkung dar, die unter der Wirkung von 1 γ/kg bzw. 10 γ/kg „Glphch." entstand. Die Darmbewegun-

Abb. 3. Katze Nr. 5. Gewicht: 2600 g.

gen waren beinahe unverändert. Nach 0,1 mg/kg „Glphch." (Nr. 22) sinkt der Blutdruck um 30 mm, erreicht aber kurz darauf seine ursprüngliche Höhe. Die Darmbewegungen weisen eine gewisse Erschlaffung auf. Die Darmerschlaffung ist bei der Reaktion Nr. 23 besonders ausgeprägt, die nach 1 mg/kg „Glphch." zustande kam. Hier konnte ein sich hinziehender Blutdruckabfall von 40 mm beobachtet werden. Die Reaktion ist qualitativ und quantitativ ähnlich den durch 1 γ/kg Acch. und 1 mg/kg Chchl. bedingten Reaktionen. Die Wirkung von 1 γ/kg und 10 γ/kg „Glphacch." wurde mit den Reaktionen Nr. 24 und 25 abgebildet. Wie

ersichtlich, ruft 1 γ/kg 20 mm, 10 γ/kg 35 mm Abfall hervor, der ziemlich rasch abklingt. Bei der letzten Dosis erschlafften auch die Darmbewegungen.

Abb. 4. Nach Feststellung der Reaktionsbereitschaft des Tieres und der Wirkung der verschiedenen Cholinpräparate untersuchten wir die Wirkung dieser Mittel nach Verabreichung von 10 mg/kg Atropinsulfat. Nach Atropinbehandlung zeitigte 1 γ/kg „Adr." 20 mm Blutdruckerhöhung (Nr. 12). Diese Reaktion stimmt mit der vor der Atropingabe erhaltenen überein. Dagegen kommt nach 1 mg/kg „Acch." eine paradoxe Reaktion zustande, indem der Blutdruck ansteigt. Im gegenwärtigen Fall betrug der Anstieg 20 mm (Nr. 13). Auch 1 mg pro kg „Chchl." (Nr. 14), 10 mg/kg „Chchl." (Nr. 15), 1 mg/kg „Chph." (Nr. 16), 10 mg/kg „Chph." (Nr. 17), 1 mg/kg „Acchph." (Nr. 18) und 1 mg/kg „Glphacch." (Nr. 19) haben den Blutdruck erhöht. Die Erhöhung betrug 12—21 mm. Die Darmbewegungen werden eher lebhafter, im Gegensatz zur Wirkung dieser Dosen auf das unvorbehandelte Tier, bei denen eine Darmerschlaffung beobachtet werden konnte.

Abb. 4. Katze Nr. 11. Gewicht: 1670 g. Nach Atropinisierung. Siehe im Text.

Abb. 5. 1 γ/kg Adr., 1 γ/kg Acch. und auch die anderen Cholinpräparate lösten der Reihe nach dieselbe Wirkung aus wie auf den Abb. 1, 2, 3 ersichtlich. Darum wollen wir auf ihre Darstellung verzichten. Hingegen sollen die Reaktionen Nr. 10, 11, 12, 13, 14 und 16, die das Ver-

Abb. 5. Katze Nr. 16. Gewicht: 2600 g. Nach Dekapitation. Siehe im Text.

halten eines dekapitierten Tieres zeigen, abgebildet werden. Wie ersichtlich, fällt der Blutdruck nach 1 γ/kg „Acch." um 8 mm (Nr. 10), nach 0,1 mg/kg „Chchl." (Nr. 11) gleichfalls um 8 mm, im letzten Fall erschlafft auch die Darmbewegung. Ein genau ähnliches Bild entsteht nach 0,1 mg/kg „Chph." (Nr. 12), 0,1 mg/kg „Glphch." (Nr. 13), 1 γ/kg „Acchph." (Nr. 14) und 1 γ/kg „Glphacch." (Nr. 16).

Abb. 6. Die Wirkung der Cholinpräparate war bei diesem Tier ähnlich wie auf den Abb. 1, 2 und 3. Nun haben wir die Nebennieren des Tieres sorgfältig entfernt, auch darauf wurde geachtet, daß keine akzessorischen Nebennieren belassen wurden. Das nach dem Eingriff verabreichte 1 γ/kg

Abb. 6. Katze Nr. 17. Gewicht: 2600 g. Nach Entfernung der Nebennieren. Siehe im Text.

„Adr." steigert den Blutdruck um 10 mm (Nr. 12), 1 γ/kg „Acch." bewirkt, wie die Reaktion Nr. 19 zeigt, 22 mm Abfall im Blutdruck. Nach 0.1 mg/kg „Chchl." (Nr. 13), 0,1 mg/kg Chph." (Nr. 14), 0,1 mg/kg „Glphch." (Nr 15), 1 γ/kg „Acchph." (Nr. 17), 1 γ/kg „Glphacch." (Nr. 18) sinkt der Blutdruck immer um 14 mm. An der Darmbewegung läßt sich eher ein allmähliches

Lebhafterwerden bemerken. Die Darmerschlaffung, die bei Nebennieren besitzenden Tieren zustande kommt, bleibt bei den nebennierenlosen weg.

Außer diesen Blutdruck- und Darmbewegungsversuchen haben wir auch die Versuche am Musc. rectus abd. des Frosches in der üblichen Weise angestellt, da dieser Versuch unter den Cholinderivaten auch die quantitativen Verhältnisse zum Ausdruck bringt, während der Blutdruck- und

Abb. 7. Versuch mit M. rectus adb. von Rana esculenta. Siehe im Text.

der Darmbewegungsversuch lediglich vom Gesichtspunkt der qualitativen Auswertung in Betracht kommen. Ein solcher Versuch ist auf Abb. 7 zu sehen. Bei der Reaktion Nr. 1 wurde Acch. in der Verdünnung $1 : 10^6$ angewandt; hierauf sprach der Muskel mit einer 27 mm betragenden Kontraktion an. Diese Tonussteigerung konnte mit Ringerlösung in 11,5 Minuten ausgewaschen werden. Reaktion Nr. 4 zeigt eine ähnliche Wirkung nach $1 : 10^5$ verdünntem „Acchph." Reaktion Nr. 8 stellt die Wirkung von Glphacch. $1 : 10^4$ dar. Nach der letzten Dosis beträgt die Tonussteigerung 31 mm, die sich in 20 Minuten auswaschen läßt.

Abb. 8. Die Reaktionen Nr. 2, 5 und 9 führen die Wirkung von „Chchl.“, „Chph.“ und „Glphch.“ 1 : 1000 vor. Ihre Wirkungsstärke ist gleich, alle drei bewirkten 35 mm Tonussteigerung, die in 66, 68 bzw. 67 Minuten durch Wechseln der Ringerlösung ausgewaschen werden konnte.

Abb. 8. Versuch mit M. rectus abd. von Rana esculenta. Siehe im Text.

Die Vergleichung der letzten zwei Bilder läßt feststellen, daß „Chchl.“, „Chph.“ und „Glphch.“ in der Verdünnung 1 : 1000 dieselbe Wirkungsstärke aufweisen wie „Acch.“ 1 : 10^6, „Acchph.“ 1 : 10^5 oder „Glphacch.“

$1:10^4$. Der einzige Unterschied besteht darin, daß die durch azetylierte Verbindungen bedingte Tonussteigerung durch das Wechseln der Ringerlösung rascher beseitigt werden kann als die ähnlich große, die durch nichtazetylierte Verbindungen hervorgerufen wurde.

Als das Endresultat unserer Versuche läßt sich feststellen, daß die von uns hergestellten Cholinderivate, und zwar das Cholinphosphat, Azetylcholinphosphat, glycerinphosphorsaures Cholin und glycerinphosphorsaures Azetylcholin alle cholinergisch wirken und sich voneinander nur im Hinblick auf die Wirkungsstärke unterscheiden. Diese Feststellung halten wir deshalb für wichtig, weil O. Eichler das von ihm geprüfte Cholinphosphat als einen adrenergischen Stoff bezeichnete. Nach Anwendung dieses Stoffes kommt es zu einer Blutdrucksteigerung, die nach Entköpfung, Nebennierenentfernung, Nikotin- und Atropinbehandlung unverändert zustande kommt. Der Stoff bewirkt eine Darmerschlaffung, ebenso wie das Adrenalin. Nach Ergotamintartarat verabreicht, ruft das Cholinphosphat Blutdrucksenkung hervor, während die Darmbewegungen gefördert werden.

Bei den Versuchen O. Eichlers fallen die verwendeten enorm großen Dosen auf. In Blutdruckversuchen hat er Katzen mindestens 25 mg/kg, zumeist aber 0,1 g/kg verabreicht.

In den hier mitgeteilten Versuchen, aber auch bei unseren früheren Untersuchungen, haben wir die Erfahrung gemacht, daß große Dosen der Cholinderivate nach einem anfänglichen kurzdauernden und geringen Blutdruckabfall eine ausgeprägte und ziemlich anhaltende Blutdruckerhöhung herbeiführen. Es kommt demnach zu einer biphasischen Reaktion, in der das Ansteigen des Blutdrucks überwiegt. Diese Wirkung haben wir nach 10 mg/kg Cholinchlorid beobachtet und in einer früheren Arbeit veröffentlicht. Eine ähnliche Wirkung sahen wir nach 10 mg/kg Cholinphosphat und 10 γ/kg glycerinphosphorsaurem Cholin verlaufen.

Zugleich ist es eine sehr interessante Erscheinung, daß 1 mg/kg Chchl., 1 mg/kg Chph. und 1 mg/kg Glphch. immer, das Acchph. und das Glphacch. in der Dosis 10 γ/kg manchmal, und zwar in den Fällen, wo diese Verbindungen entsprechend ihren cholinergischen Eigenschaften einen ausgeprägten und kennzeichnenden Abfall des Blutdrucks hervorriefen, eine auffallende Erschlaffung der Darmbewegungen herbeiführten. Diese Erscheinung wurde an den ganz normalen, nur mit Chloralose narkotisierten Tieren beobachtet.

Aus den besprochenen Versuchen am Blutdruck und an den Darmbewegungen der Katze sowie aus den Untersuchungen am Rectuspräparat hat es sich herausgestellt, daß das Azetylcholinphosphat zehnmal, das β-glycerinphosphorsaure Azetylcholin 100mal, das Cholinchlorid, das Cholinphosphat und das β-glycerinphosphorsaure Cholin 1000mal schwächer wirken als das Azetylcholin.

Zusammenfassung.

1. Die Zersetzungsprodukte des β-glycerinphosphorsauren Cholinesters wurden hergestellt: a) Cholinphosphat, b) β-glycerinphosphorsaures Cholin, ferner ihre Azetylderivate (Azetylcholinphosphat und β-glycerinphosphorsaures Azetylcholin).

2. Die genannten Verbindungen wirken als cholinergisch.

3. Im Vergleich mit dem Azetylcholin können diese Verbindungen der Wirkungsstärke nach in folgender Reihe aufgestellt werden: Azetylcholinphosphat, β-glycerinphosphorsaures Azetylcholin, Cholinchlorid, Cholinphosphat, β-glycerinphosphorsaures Cholin.

Literatur.

1) Contardi u. Ercoli: Biochem. Z. **261**, 275 (1933). — 2) Arnold, H.: Ber. dtsch. Chem. Ges. **73**, 87 (1940). — 3) Jeney, A. v., u. J. Méhes: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 403 (1935). — 4) Eichler, O.: Ebenda **193**, 576 (1939). — 5) Jeney, A. v., J. Mihalik u. J. v. Uri: Ebenda **199**, 99 (1942).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Studien über Methämoglobin.

XXVI. Mitteilung: Phenyl- und Tolylhydroxylamin.

Von

Hildegard Schlimme*.

Mit 8 Textabbildungen.

(Eingegangen am 2. März 1943.)

I. Einleitung.

In Verordnungen des Reichsgesetzblattes (12. Mai 1925, RGBl. I, S. 69, 11. Februar 1929 und 16. Dezember 1936, RGBl. I, S. 1117) werden die Vergiftungen durch eine große Reihe von Nitro- und Aminokörpern des Benzols und seiner Homologen als Berufskrankheiten anerkannt, wobei besonders die Wirkung dieser Stoffe auf den Blutfarbstoff (Methämoglobinbildung) und die bei der chronischen Vergiftung eintretende Leberschädigung hervorgehoben werden. Es besteht also grundsätzliche Übereinstimmung, daß die aromatischen Nitrokörper und Amine das gleiche Vergiftungsbild hervorrufen können. Dies hat seinen Grund darin, daß die aromatischen Nitro- und Aminoverbindungen im Körper zu gleichen Produkten umgewandelt werden, die einen durch Oxydation, die anderen durch Reduktion. Nach Versuchen von Lipschitz mit o-Dinitrobenzol war anzunehmen, daß von den Reduktionsprodukten des Nitrobenzols das Phenylhydroxylamin am intensivsten Methämoglobin (oder Hämiglobin) bildet. Damit war eine Brücke zum Anilin hergestellt, dessen erstes Oxydationsprodukt im Organismus ja Phenylhydroxylamin sein muß (1). In Versuchen an Katzen fand v. Issekutz (2), daß 1 mg/kg Phenylhydroxylamin in wässeriger Lösung bereits nach 1 Stunde eine 50%ige Umwandlung des Blutfarbstoffes in Methämoglobin herbeiführte, während zur Erzielung des gleichen Effektes mit Anilin etwa die zehnfache Dosis nötig ist. Phenylhydroxylamin kann ein Vielfaches der Menge an Methämoglobin erzeugen, die seiner Molzahl entspricht. Diese stark katalytische Wirkung wird dadurch erklärt, daß bei dem Umsatz des Phenylhydroxylamins mit dem Blutfarbstoff eine Kreisreaktion unter Entstehung eines höher oxydierten Radikals eine Rolle spielt (3).

Da bisher nur ein geringes Material über die Toxizität der aromatischen Hydroxylamine vorliegt, habe ich den Ablauf der akuten Vergiftung nach Injektion verschiedener Hydroxylamine untersucht. Außerdem erschienen chronische Versuche mit Phenylhydroxylamin von Interesse,

---

* D 11.

da diese Substanz auch technische Bedeutung haben kann. Etwaige Schädigungen durch Phenylhydroxylamin können aber nicht als Berufskrankheit anerkannt werden, da diese Substanz weder zu den Aminen noch zu den Nitroderivaten des Benzols gehört.

II. Akute Versuche mit Phenylhydroxylamin.

Als Ergänzung und Erweiterung der Ergebnisse von v. Issekutz (2) seien zunächst mehrere Versuche über die akute Vergiftung von Katzen mit Phenylhydroxylamin angeführt, wobei neben der Methämoglobinbildung auch die Entstehung von Heinzkörperchen in den Erythrocyten verfolgt wurde. Die Messung des Hämoglobins und Methämoglobins geschah nach der von Havemann, Jung und v. Issekutz angegebenen

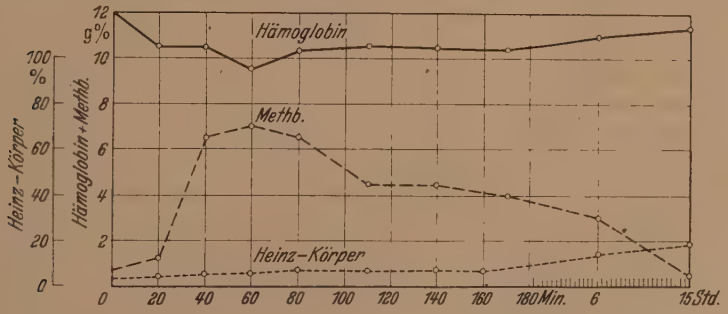


Abb. 1. Katze 85; 2,4 kg. 1 mg je kg Phenylhydroxylamin.

Methode (4), die Färbung der Heinzkörperchen wurde in der üblichen Weise mit Nilblausulfat etwa 24 Stunden nach der erfolgten Injektion vorgenommen. Das Phenylhydroxylamin stellte ich nach dem von Bamberger und Wohl angegebenen Verfahren her (5). Die reine Substanz, die einen Schmelzpunkt von 81° hatte, wurde in 0,5%iger wässeriger Lösung den Katzen subcutan verabfolgt. Die Tabelle 1 gibt eine Übersicht über die von mir erzielten Resultate, Abb. 1 ein Beispiel.

Das Maximum der Vergiftung wurde in den meisten Fällen nach ungefähr 1 Stunde erreicht, dann ging das Methämoglobin langsam im Verlauf mehrerer Stunden zurück. Nach 6—8 Stunden war der Ausgangswert wieder erreicht. Berechnet man nach den Angaben der Tabelle aus den Versuchen, in denen 1 mg/kg der Substanz dem Tier gegeben wurde, das Verhältnis der gebildeten Äquivalente Methämoglobin zu den zugeführten Molen Phenylhydroxylamin, so schwankt der Umsatz Val/Mol zwischen 26 und 34. Diese Befunde stimmen gut mit den Angaben von v. Issekutz überein, der ein Verhältnis zwischen 22 und 35 fand. Die Zunahme der Heinzkörperchen in den Erythrocyten war nach einer einmaligen Injektion am nächsten Tag meist gering (vgl. Versuche 4, 5, 6, 11 und 12). Nach nochmaliger Gabe wurden jedoch ziemlich hohe Werte

erreicht (vgl. Versuche 7—10 der Tabelle 1). Das Auftreten einer Anämie wurde bei diesen Versuchen nicht beobachtet.

Tabelle 1. Akute Versuche mit Phenylhydroxylamin.

Der Hämoglobinwert wurde unter Annahme von 75 ccm Blut je kg Tier berechnet, der Methämoglobinwert im Maximum unter Abzug des Ausgangswertes.

Versuch Nr.	Bez. des Tieres	Dosis in mg/kg	Dosis in Mol 10^{-4}	Mittlerer Hb.-Wert in g%	Hb.-Wert in Val 10^{-4}	Methb. rel. %	Methb. in Val 10^{-4}	Max. der Vergiftung in Std.	Heinzkörper in %		
									Beginn	Ende nach 24 Std.	Diff.
1	65	0,5	0,046	7,65	3,6	49	1,8	$1^1/_2$	30*	32	2
2	63	0,5	0,046	9,1	4,3	41	1,8	1	25*	28	3
3	51	0,5	0,046	8,15	3,8	57	2,2	1	27*	32	5
4	85	1	0,092	11,25	5,3	52	2,8	1	3	19	16
5	86	1	0,092	10,4	4,9	50	2,4	1	1	12	11
6	84	1	0,092	10,25	4,8	65	3,1	$1^1/_2$	11	25	14
7	84	1	0,092	10,25	4,8	55	2,6	1	26*	32	6
8	84	1	0,092	9,7	4,5	68	3,1	$1^1/_2$	34*	46	12
9	87	1	0,092	10,3	4,8	66	3,1	$1^1/_2$	8	59	51
10	87	1	0,092	8,65	4,1	64	2,6	1	56*	75	19
11	38	1,5	0,138	11,3	5,3	66	3,5	$^3/_4$	5	24	19
12	27	1,5	0,138	9,65	4,5	70	3,2	$^3/_4$	4	20	16

* Die höheren Werte stammten noch von der vorhergegangenen Vergiftung.

III. Chronische Versuche mit Phenylhydroxylamin.

Um die Frage zu klären, ob sich bei chronischer Verabfolgung von Phenylhydroxylamin ähnliche Vergiftungsbilder wie bei den Vergiftungen

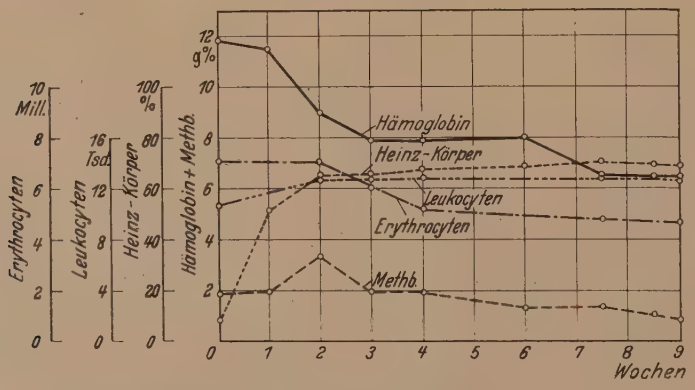


Abb. 2. Katze 67. Erhält täglich 0,5 mg Phenylhydroxylamin je kg.

mit aromatischen Nitro- oder Aminokörpern zeigen, wurde Katzen 0,5 mg/kg Phenylhydroxylamin in wässeriger Lösung täglich subcutan injiziert. Die Untersuchung des Blutes erfolgte in regelmäßigen Abständen wöchentlich einmal, stets vor einer neuen Injektion, also etwa 24 Stunden nach der vorhergegangenen Vergiftung.

Die gewählte Dosis bewirkte jeweils eine etwa 50%ige Umwandlung des Blutfarbstoffes in Methämoglobin (vgl. Versuche 1, 2 und 3 der Tabelle 1). Die doppelte Menge (1 mg/kg) den Tieren öfters gegeben, wurde

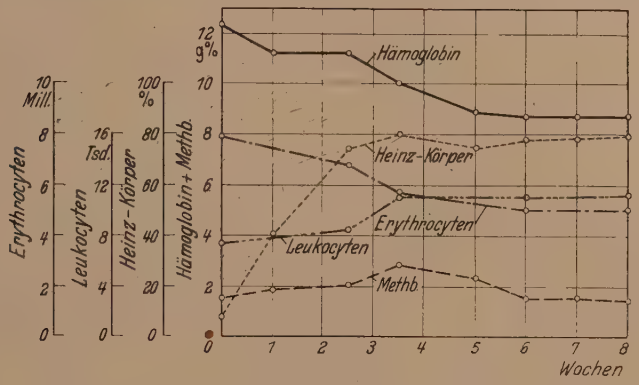


Abb. 3. Katze 63. Täglich 0,5 mg Phenylhydroxylamin je kg.

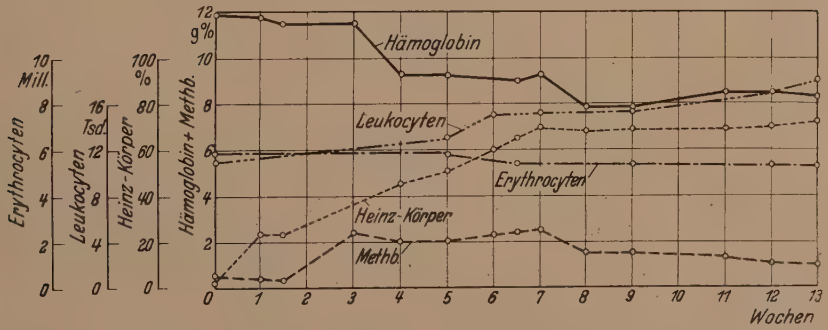


Abb. 4. Katze 51. Täglich 0,5 mg Phenylhydroxylamin je kg.

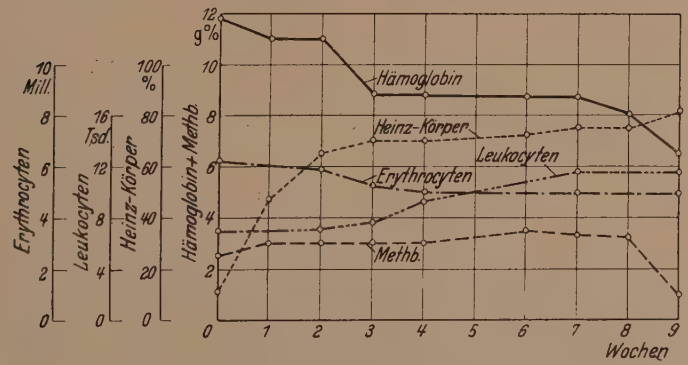


Abb. 5. Katze 65. Täglich 0,5 mg Phenylhydroxylamin je kg.

nicht vertragen. Drei damit behandelte Tiere starben bereits nach der 3. oder 4. Injektion. Bei der Dosis von 0,5 mg/kg gelang es dagegen, die

Tiere über längere Zeit am Leben zu erhalten. Dabei ist natürlich notwendig, das für die Injektion benötigte Phenylhydroxylamin in kürzeren Abständen neu herzustellen. Auffällig ist, daß die Tiere trotz der bei jeder Injektion auftretenden erheblichen akuten Vergiftung lange überlebten. Ein bemerkenswerter Befund war die Beständigkeit des erzeugten Methämoglobins, das noch einen ganzen Tag nach der letzten Injektion nachweisbar blieb. Da nach einer einmaligen Injektion von 0,5 mg/kg Phenylhydroxylamin das Methämoglobin in 6—8 Stunden verschwunden war, ist der erhöhte Methämoglobingehalt bei den chronischen Versuchen vielleicht auf eine Abnahme der Fähigkeit des Organismus zur Rückbildung des Methämoglobins zurückzuführen. Auch eine geringe Zunahme der Leukocyten war bei allen Tieren im Verlaufe von mehreren Wochen zu sehen. Die Zahl der Heinzkörperchen erreichte bei drei Tieren in 2 Wochen den Wert von 60 % und stieg dann noch mehr an. Eine Heinzkörperchenbildung in 100 % der Erythrocyten, die z. B. bei Vergiftungen mit Dinitrobenzol oft schon nach 1 Tag erreicht wird, wurde nicht beobachtet. Bei Vergiftungen von Katzen mit 5 mg/kg Dinitrobenzol wird ungefähr ebensoviel Methämoglobin gebildet wie durch 0,5 mg/kg Phenylhydroxylamin. Die bei meinen chronischen Versuchen nach 5—9 Wochen beobachtete Anämie entsprach in der Höhe etwa derjenigen, die nach einer einmaligen Vergiftung mit 5 mg/kg m-Dinitrobenzol bereits am zweiten Tage gemessen wurde.

Die histologischen Untersuchungen von Leber, Milz, Nieren und Lungen der chronisch mit Phenylhydroxylamin vergifteten Katzen ergaben keinen pathologischen Befund. Demnach scheint Phenylhydroxylamin wohl hauptsächlich wegen der schnell vorübergehenden Vergiftung ein sehr viel harmloseres Gift zu sein als die aromatischen Nitrokörper.

Auf Grund dieser Ergebnisse erscheint es berechtigt, wenn die eingangs erwähnten Verordnungen im Reichsgesetzblatt das Phenylhydroxylamin nicht besonders erwähnen.

Die bekannte, stark hautreizende Wirkung des Phenylhydroxylamins habe ich nicht untersucht. Doch sei bemerkt, daß bei den an dieser Untersuchung beteiligten Personen erhebliche Ekzeme an den Händen auftraten, die sich in einem Falle sogar auf den Unterarm erstreckten und mit einer starken Schwellung einhergingen.

IV. Akute Versuche mit Tolylhydroxylaminen.

Vor kurzem haben v. Bredow und Jung vergleichende Untersuchungen über die Giftwirkung einer großen Reihe von aromatischen Nitrokörpern ausgeführt (6), wobei als Maß der Toxizität die Bildung von Methämoglobin gewählt wurde. Hierbei zeigte sich unter anderem, daß die Einführung einer Methylgruppe die methämoglobinbildende Wirkung einer Nitroverbindung stark herabsetzt. So war Nitrotoluol viel weniger

wirksam als Nitrobenzol, und ebenso Dinitrotoluol weniger als Dinitrobenzol. Weiter ergab sich, daß auch die Stellung der verschiedenen Substituenten zueinander von Bedeutung war. So nahm die Methämoglobinbildung bei den Nitrotoluolen in der Reihenfolge o-, m-, p- ab. Die Giftigkeit eines Methämoglobinbildners hängt einmal von seiner Reduzierbarkeit ab, zum andern von der Wirksamkeit und Beständigkeit des aus ihm entstandenen katalytischen Systems. Aus den obenerwähnten Untersuchungen war nicht zu ersehen, ob die Reduktion der untersuchten Nitroverbindung durch die Art und Stellung der Substituenten am Benzolring erschwert wird, oder ob die entstandenen Reduktionsprodukte selbst weniger wirksam sind. Um diese Frage zu klären, habe ich die verschiedenen isomeren Tolylhydroxylamine hergestellt, und ihre methämoglobinbildende Wirkung geprüft. Die Herstellung von o-, m- und p-Tolylhydroxylamin gelang nach der Methode von Bamberger und Rising (7) ohne Schwierigkeiten.

1. Meta-Tolylhydroxylamin.

10 g m-Nitrotoluol, 1 g Ammoniumchlorid, 10 ccm Wasser und 25 ccm Alkohol wurden in einem Glaskolben mit Rückflußkühler erhitzt. Dann wurde 15 g 80%iger Zinkstaub portionsweise eingetragen. Für eine kräftige Rührung war Sorge getragen. Die während der Reduktion des m-Nitrotoluols entstehende Wärme hält die Temperatur dauernd auf 79—80°, so daß eine Wärmezufuhr von außen nicht notwendig ist. Nach Beendigung der Reduktion des m-Nitrotoluols wurde nach Abkühlung auf einer Nutsche abgesaugt und das Filtrat in 150 ccm Eiswasser eingegossen. Dabei kristallisierte m-Tolylhydroxylamin aus. Nach Umkristallisieren aus Benzol und Petroläther erhielt ich reines m-Tolylhydroxylamin mit einem Schmelzpunkt von 68°. Die Substanz war sehr viel haltbarer als Phenylhydroxylamin.

2. Para-Tolylhydroxylamin.

Zu einer Lösung von 50 g p-Nitrotoluol in 100 ccm Alkohol und 50 ccm 2 n wässeriger Ammoniumchloridlösung wurde im Laufe einer halben Stunde 50 g Zinkstaub bei einer Temperatur von 60—70° unter guter Rührung am Rückflußkühler zugesetzt. Die weitere Verarbeitung entsprach der beim m-Tolylhydroxylamin beschriebenen. Schmelzpunkt 93°.

3. Ortho-Tolylhydroxylamin.

20 g o-Nitrotoluol in 30 ccm Alkohol, 2 g Ammoniumchlorid und 20 ccm Wasser wurden miteinander gemischt. Unter kräftigem Rühren wurde in diese Lösung in 20 Minuten 30 g Zinkstaub bei einer Temperatur von 61—70° eingetragen. Dann wurde auf einer Nutsche abgesaugt und der Zinkoxydschlamm mit Äther nachgewaschen. Das Filtrat wurde im Vakuum eingeengt. Der Rückstand wurde 12 Stunden bei 0° im Eis-

schrank aufbewahrt, wobei das o-Tolylhydroxylamin auskristallisierte. Nach wiederholtem Umkristallisieren aus Benzol und Petroläther wurden helle, glänzende Nadeln erhalten, die den verlangten Schmelzpunkt von 44°

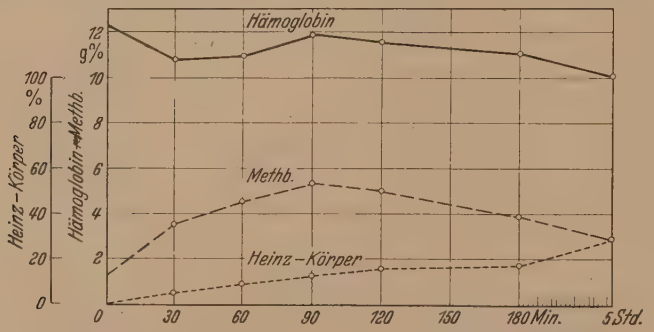


Abb. 6. Katze 71; 3,3 kg. Erhält 1,13 mg m-Tolylhydroxylamin je kg.

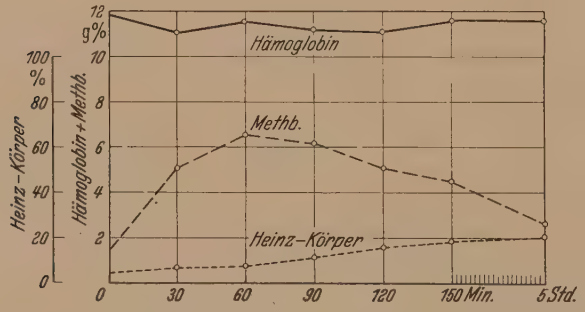


Abb. 7. Katze 72; 3,0 kg. Erhält 1,13 mg p-Tolylhydroxylamin je kg.

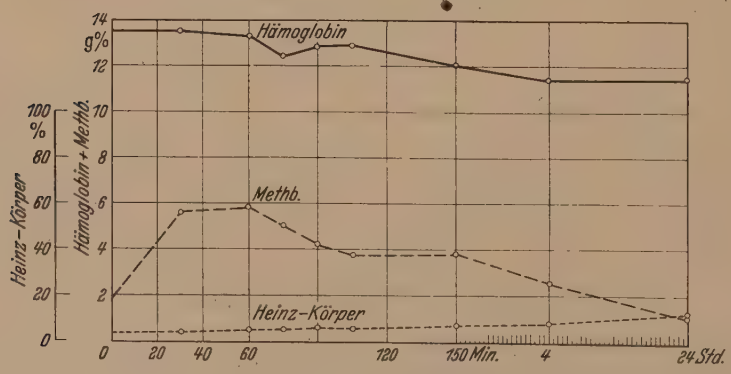


Abb. 8. Katze 38; 3,4 kg. Erhält 1,13 mg o-Tolylhydroxylamin je kg.

aufwiesen. o-Tolylhydroxylamin ist im Gegensatz zu seinen Isomeren nur wenige Tage haltbar.

Die Tolylhydroxylamine wurden den Katzen ebenso wie Phenylhydroxylamin in 0,5 %iger wässeriger Lösung subcutan injiziert, und zwar

in äquimolarer Menge zum Phenylhydroxylamin. In der Tabelle 2 sind die Versuche mit den drei Isomeren des Tolylhydroxylamins zusammengestellt; ferner wird der Ablauf der Vergiftung an je einem charakteristischen Beispiel in einer Kurve wiedergegeben (Abb. 6—8).

Tabelle 2. Akute Versuche mit o-, m- und p-Tolylhydroxylamin.
Der Hämoglobinwert wurde unter Annahme von 75 ccm Blut je kg Tier berechnet, der Methämoglobinwert im Maximum unter Abzug des Ausgangswertes.

Versuch Nr.	Bez. des Tieres	Dosis in mg/kg	Dosis in Mol 10^{-4}	Mittlerer Hb.-Wert in g%	Hb.-Wert in Val 10^{-4}	Methb. in rel. %	Methb. in Val 10^{-4}	Max. der Vergiftung in Std.	Heinzkörper in %		
									Beginn	Ende nach 24 Std.	Diff.
				I. m-Tolylhydroxylamin.							
13	71	1,13	0,092	11,15	5,2	36	1,8	1½	5	28	23
14	72	1,13	0,092	14,05	6,6	27	1,8	1	25*	60	35
15	71	1,13	0,092	9,7	4,5	38	1,7	1	25*	43	18
16	58	1,13	0,092	12,55	5,9	30	1,8	2	52*	68	16
				II. p-Tolylhydroxylamin.							
17	58	1,13	0,092	12,05	5,6	48	2,7	½	3	21	18
18	71	1,13	0,092	8,75	4,1	34	1,4	1	36*	54	18
19	72	1,13	0,092	11,4	5,3	46	2,5	1	5	20	15
20	71	1,13	0,092	14,0	6,6	26	1,6	1½	30*	38	8
				III. o-Tolylhydroxylamin.							
21	38	1,13	0,092	12,5	5,9	32	1,9	1	4	13	9
22	38	1,13	0,092	10,75	5,0	27	1,4	1	13*	25	12
23	38	1,13	0,092	11,3	5,3	47	2,5	½	18*	25	7
24	42	1,13	0,092	10,85	5,1	42	2,1	½	2	12	10
25	42	1,13	0,092	12,1	5,7	31	1,8	1	12*	19	7

* Die höheren Werte stammten noch von der vorhergegangenen Vergiftung.

Aus den Kurven geht hervor, daß der Ablauf der Vergiftung keine erheblichen Unterschiede gegenüber derjenigen mit Phenylhydroxylamin aufweist. Auch hier war die Heinzkörperchenbildung nach einer einmaligen Injektion am nächsten Tage gering. o-Tolylhydroxylamin scheint in dieser Hinsicht die geringste Wirkung zu haben. Als auffälligstes Ergebnis dieser Untersuchungen kann festgestellt werden, daß die Methämoglobinbildung bei den drei Isomeren fast gleich ist. p-Tolylhydroxylamin scheint eher stärker zu wirken, was insofern bemerkenswert erscheint, als die entsprechende Nitroverbindung die am wenigsten wirksame der 3 Isomeren ist und nur unsicher Methämoglobin bildet.

Die Ergebnisse dieser Versuche geben Aufschluß über das untersuchte Problem. Einen übersichtlichen Vergleich der Wirkungen der isomeren Tolylhydroxylamine mit dem Phenylhydroxylamin gibt Tabelle 3, auf der auch die von M. v. Bredow und F. Jung (6) erhaltenen Daten für die entsprechenden Nitroverbindungen verzeichnet sind.

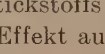
Die Berechnung des Val/Molverhältnisses aus den Durchschnittswerten der Versuche mit 1 mg/kg ergibt für das Phenylhydroxylamin

Tabelle 3. Maximale Methämoglobinbildung bei Katzen.

	Methyl-gruppe	Val je Mol	Nach Stunden	Zahl der Versuche	Heinz-körper
Phenylhydroxylamin	—	28	1,2	7	++
Tolylhydroxylamin	o	19	1,4	5	+
	m	18	1,4	4	++
	p	21	0,8	4	+
Nitrobenzol	—	0,86	6	16	++
Nitrotoluol	o	0,05	8	6	++
	m	0,04	6	7	++
	p	sehr wenig	?	12	+++

einen Durchschnittswert von 28; nimmt man dazu die beiden mit der gleichen Dosis durch v. Issekutz erhaltenen Zahlen, so erhält man 27 (mit einer Streuungsbreite von 19—31). Demgegenüber liegen die Mittelwerte der 3 Tolylderivate mehr beisammen um 19 (mit Streuung der Einzelwerte von 14 bis 27). Zweifellos besteht ein Unterschied zwischen Phenyl- und den Tolylhydroxylaminen, doch ist er nur geringfügig. Durch die Methylsubstitution wird also die methämoglobinbildende Wirkung eines aromatischen Hydroxylamins nur wenig vermindert. Auch die Stellung der Substituenten zur reduzierten Nitrogruppe am Benzolring ist offenbar ohne Bedeutung. Ferner verdient Beobachtung, daß das Tempo der Methämoglobinbildung bei allen Hydroxylaminen das gleiche ist. Demgegenüber sind — wie oben bereits bemerkt — die Nitrotoluole viel weniger wirksam als das Nitrobenzol. Das Tempo der Methämoglobinbildung ist auch bei vielfach höheren Dosen viel langsamer. Die Einführung der Methylgruppe und ihre Stellung zur Nitrogruppe am Benzolring behindert demnach vor allem die Reduktion der Nitroverbindung und damit die Entstehung des eigentlichen Methämoglobinbildners.

Die Kennzeichnung der Heinzkörperchenbildung auf Tabelle 3 ist mehr oder weniger willkürlich. Sie bezieht sich bei den Nitroverbindungen auf Dosen, die einen größeren Bruchteil des Hämoglobins umwandeln, annähernd so viel, wie die Tolylhydroxylamine in der Dosis von 1,13 mg/kg bewirken und deutlich weniger wie 1 mg Phenylhydroxylamin.

In jedem Fall ist es sehr bemerkenswert, daß die Hydroxylamine ebenfalls die Bildung von Heinzkörperchen hervorrufen. Denn anorganisches Nitrit und Nitritester sind dazu nicht in der Lage (8), um so mehr die Nitratester (9). In der aromatischen Reihe muß es also eine ganz andere Oxydationsstufe des Stickstoffs oder ein ganz andersartiges Reaktionsprodukt sein, das diesen Effekt auslöst wie bei den Estern der Stickstoffsäuren. Sehr fraglich muß es auch erscheinen, ob dasselbe Zwischenprodukt [also das Radikal  N = O (10)], das für die Methämoglobinbildung verantwortlich ist, auch die letzte Ursache für die Bildung der

Heinzkörperchen darstellt. Vielleicht hat man an das bei der weiteren Umwandlung der Hydroxylamine zu den Azoxyverbindungen entstehende Wasserstoffperoxyd zu denken (?).

Chronische Versuche mit Tolylhydroxylamin habe ich nicht vorgenommen, da nach den aufgeführten Ergebnissen zu erwarten war, daß die Tolylhydroxylamine im gleichen Sinne, wenn auch weniger wirksam sind als das Phenylhydroxylamin.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

I. Es wurde die Methämoglobinbildung und die Erzeugung von Heinzkörperchen durch Phenylhydroxylamin und die drei Isomeren des Tolylhydroxylamins an Katzen untersucht.

II. In akuten Versuchen mit Phenylhydroxylamin konnten die Ergebnisse von v. Issekutz bestätigt und erweitert werden. Der Anstieg der Heinzkörperchen in den Erythrocyten ist nach einer einmaligen Injektion von 1 mg/kg dieser Substanz nur gering.

III. Chronische Versuche mit täglich 0,5 mg/kg Phenylhydroxylamin ergaben im Vergleich zu den Nitrokörpern (in höheren Dosen!) eine verhältnismäßige Harmlosigkeit der Substanz. Das Auftreten einer geringen Anämie wurde erst nach mehreren Wochen beobachtet. Histologisch waren keine Veränderungen an den Organen nachzuweisen. Die Zahl der Heinzkörperchen in den Erythrocyten erreichte von der zweiten Woche an den Wert von 60—70%.

IV. Die Substitution des Phenylhydroxylamins mit einer Methylgruppe ergab nur einen geringen Verlust der Wirksamkeit. Bei den isomeren Tolylhydroxylaminen ist die methämoglobinbildende Wirkung fast gleich. Die Stellung der Methylgruppe zur reduzierten Nitrogruppe hat daher keinen Einfluß auf die Oxydation des Blutfarbstoffs. Die Versuche führten also zu dem Schluß, daß die Reduktion aromatischer Nitroverbindungen durch eine Methylsubstitution sehr erschwert wird.

Literatur.

1) Heubner, W.: Erg. Physiol. **43**, 43 (1940). — 2) Issekutz, B. v.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 556 (1939). — 3) Jung, F.: Ebenda **195**, 212 (1940). — Heubner, W.: Erg. Physiol. **43**, 44 (1940); Klin. Wschr. **1942**, S. 962. — 4) Havemann, R., F. Jung u. B. v. Issekutz: Biochem. Z. **301**, 116 (1939). | 5) Bamberger, E.: Ber. dtsch. chem. Ges. **27**, 1347 (1890); Wohl, A.: Ebenda **27**, 1432 (1890). — 6) Bredow, M. v., u. F. Jung: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **200**, 335 (1942). — 7) Bamberger, E., u. A. Rising: Ann. Chem. **316**, 278 u. 280. — 8) Pulina, B.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **200**, 324 (1942). — 9) Wilhelmi, H.: Ebenda **200**, 305 (1942). — 10) Heubner, W.: Klin. Wschr. **1942**, S. 962.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Studien über Methämoglobinbildung.

XXVII. Mitteilung: Nitrierte aromatische Hydroxylamine und 3, 3'-Dinitroazoxybenzol.

Von

Hans Herken.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 3. Februar 1943).

I.

Über die Giftigkeit des m-Dinitrobenzols sind wegen der besonderen praktischen Bedeutung dieser Substanz eine große Anzahl eingehender Untersuchungen vorgenommen worden. Genaue quantitative Angaben über das Ausmaß und den Ablauf der Vergiftung, gemessen an der Methämoglobinbildung, verdanken wir den Arbeiten von W. Heubner und Lo Sing [1], sowie B. v. Issekutz [2]. Besonders charakteristisch für die Vergiftung mit m-Dinitrobenzol ist die im Organismus nachzuweisende außerordentlich lange Veränderung des Blutfarbstoffs. Hieraus ergeben sich eine Reihe von Problemen über den Umsatz des Giftes mit dem Hämoglobin, von denen erst ein Teil gelöst werden konnte. M. v. Bredow und F. Jung [3] kamen auf Grund von vergleichenden Untersuchungen zu dem Schluß, daß die Umsatzgeschwindigkeit der aromatischen Nitroverbindungen mit der Zahl der Nitrogruppen grundsätzlich ansteigt. Sowohl bei Benzol wie bei den Toluolen konnten Anhaltspunkte dafür beigebracht werden, daß die Reaktionsfähigkeit einer Nitrogruppe durch die Anwesenheit einer zweiten gesteigert wird. Durch die Arbeiten von W. Lipschitz [4] sind wir darüber orientiert, daß Dinitrobenzol durch Muskelbrei zu Nitrophenylhydroxylamin reduziert wird. Dieses Reduktionsprodukt ist sehr giftig und kann direkt mit dem Blutfarbstoff unter Bildung von Methämoglobin reagieren. Nitrophenylhydroxylamin ist auch von W. Heubner, R. Meier und H. Rhode [5] untersucht worden. Die Autoren fanden, daß Nitrophenylhydroxylamin weniger wirksam ist als Phenylhydroxylamin.

---

[1] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 143 (1937). — [2] Ebenda **193**, 551 (1939). — [3] Ebenda **200**, 335 (1942). — [4] Hoppe-Seylers Z. **109**, 189 (1920); Pflügers Arch. **191**, 1 (1921) mit Gottschalk. — [5] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **100**, 149 (1923).

II.

Da bisher keine ausreichenden quantitativen Versuche mit dieser für eine genaue Kenntnis der Dinitrobenzolvergiftung wichtigen Substanz vorliegen, habe ich Nitrophenylhydroxylamin hergestellt und Tierversuche an Katzen vorgenommen.

Die Herstellung der Substanz wurde zuerst durch elektrochemische Reduktion von m-Dinitrobenzol versucht. Trotz sorgfältiger Einhaltung der Versuchsbedingungen nach dem von K. Brand[6] angegebenen Verfahren gelang die Reindarstellung der Substanz weder an einer Nickelelektrode noch an einem Silberdrahtnetz als Kathode. Dieser Mißerfolg ist wohl darauf zurückzuführen, daß die Einhaltung einer neutralen Reaktion, die für die Gewinnung des Nitrophenylhydroxylamins notwendig ist, bei dieser Versuchsanordnung nicht unbedingt gewährleistet ist. Hierfür spricht auch, daß nach Einleiten der für die Reduktion des m-Dinitrobenzols zum m-Nitrophenylhydroxylamin theoretisch notwendigen Strommenge neben dem Ausgangsprodukt reines m-Nitroanilin isoliert wurde. Hier ist offenbar die weitere Reduktion des entstandenen m-Nitrophenylhydroxylamins durch Anwesenheit von Hydroxylionen stark beschleunigt worden. Ich habe deswegen diese Methode verlassen und das Nitrophenylhydroxylamin durch Reduktion von m-Dinitrobenzol mit Zinkstaub im neutralen Milieu nach dem Verfahren von K. Brand und A. Modersohn[7] dargestellt. Zur Beseitigung der alkalischen Reaktion, die bei der Reduktion von m-Dinitrobenzol mit Zinkstaub entsteht, wurde eine bestimmte Menge Säure zugegeben. Auch ich habe wie K. Brand und A. Modersohn die günstigsten Resultate mit Zusatz von Essigsäure erhalten.

Eine Lösung von 10 g m-Dinitrobenzol in 70 ccm abs. Alkohol, 30 ccm Wasser, 2 g Calciumchlorid und 3 ccm Eisessig wurde in einem Rundkolben mit Rückflußkühler auf dem Wasserbad bis zum Sieden erhitzt. Unter kräftigem Rühren wurden innerhalb von 40 Minuten 12 g 80 % Zinkstaub eingetragen. Die Temperatur betrug während des Reduktionsprozesses laufend 80°. Anschließend wurde auf einer Nutsche abgesaugt und das braune Filtrat im Vakuum soweit eingeengt, bis sich die Flüssigkeit trübte. Nach mehrstündigem Aufenthalt (bei 0°) kristallisierte das Nitrophenylhydroxylamin in gelbbraunen Kristallen aus. Das Präparat wurde in reichlicher Menge heißen Benzols umkristallisiert. Es empfiehlt sich, diese Prozedur unter Stickstoff vorzunehmen, um unnötige Verluste durch die bei Anwesenheit von Sauerstoff schnell verlaufende Kondensation zu Dinitroazoxybenzol zu vermeiden[8]. Die erhaltene Substanz hatte den verlangten Schmelzpunkt von 118°. Sie reduzierte $AgNO_3$ sofort. Auf die Untersuchung des Kristallisats durch Elementaranalyse wurde ver-

---

[6] Ber. **38**, 4006 (1905). – [7] Brand, K., u. A. Modersohn: J. prakt. Chem. **120** (2), 160 (1929). – [8] Vgl. Kuhn, R., u. Weygand: Ber. dtsch. chem. Ges. **69**, 1969 (1936).

zichtet. Dagegen habe ich eine Differenzierung der Substanz gegenüber Nitroanilin und Dinitrobenzol im Tierversuch vorgenommen, da hierbei ganz erhebliche Unterschiede in der Methämoglobinbildung auftreten müssen.

In der folgenden Abbildung ist der Vergiftungsablauf mit äquimolaren Mengen der drei Substanzen wiedergegeben.

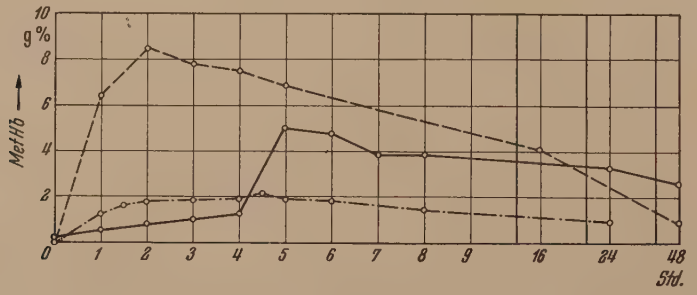


Abb. 1. Methämoglobinbildung nach 5 mg/kg m-Nitrophenylhydroxylamin: — — —, sowie äquimolarer Mengen m-Dinitrobenzol: ——— und m-Nitroanilin: — · — · —.

Wie erwartet, ist Ausmaß und Schnelligkeit der Methämoglobinbildung beim Nitrophenylhydroxylamin weitaus am stärksten. Auf den Ablauf der Vergiftung komme ich später noch zurück. Zunächst interessierte uns ein Vergleich der Wirksamkeit dieser Substanz mit früher von B. v. Issekutz[2] sowie H. Schlimme[9] untersuchten aromatischen Hydroxylaminen. Als Maß der Wirkungsintensität wurde das Maximum der Methämoglobinbildung ermittelt und hieraus das Verhältnis der gebildeten Äquivalente Methämoglobin zur injizierten Menge Substanz in Mol berechnet. Da Nitrophenylhydroxylamin sehr schlecht in Wasser löslich ist, löste ich die Substanz in Öl und injizierte sie den Katzen intraperitoneal, um günstige Resorptionsverhältnisse zu haben. Die gegebene Menge war derjenigen früherer Versuche mit 1,0 mg Phenyl- bzw. 1,13 mg Tolylhydroxylamin[9]

Tabelle 1. Akute Versuche mit Nitrophenylhydroxylamin.
(Der Hb.-Wert wurde unter der Annahme von 75 ccm Blut je kg Tier berechnet, der Methb.-Wert unter Abzug des Ausgangswertes.)

Bez. des Tieres	Dosis in mg/kg	Dosis in Mol 10^{-5}	Mittlerer Hb.-Wert des Tieres in g%	Hb.-Wert in Val 10^{-4}	Methb. im Max. rel. %	Methb. in Val/kg Tier 10^{-5}	Max. der Vergiftung in Std.	Val/Mol-Verhältnis	Heinzkörper in %		
									Beg.	Ende	Diff.
26	1,41	0,917	9,33	4,4	62	27	$1^3/_4$	29	27	29	2
27	1,41	0,917	9,12	4,3	42	18	$1^3/_4$	20	30	35	5
28	1,41	0,917	10,42	4,9	30	14	$2^1/_2$	15	32	37	5
29	1,41	0,917	8,64	4,1	33	13	$3^1/_2$	14	38	40	2
30	1,41	0,917	9,73	4,6	41	18	$2^2/_2$	20	25	27	2
						Mittel:	$2^1/_2$	20			

[9] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **202**, 60 (1943).

äquimolar. Die Bestimmung des Methämoglobins geschah nach der von R. Havemann, F. Jung und B. v. Issekutz angegebenen Methode[10].

Aus der Tabelle geht hervor, daß das Maximum der Methämoglobinbildung etwas später als bei den vorhin erwähnten aromatischen Hydroxylaminen erreicht wird. Der Durchschnittswert des Val/Mol-Verhältnisses in 5 Versuchen liegt etwa bei 20. Er entspricht damit dem Wert, der von H. Schlimme[9] in den Versuchen mit den 3 Isomeren der Tolylhydroxylamine ermittelt wurde. Demnach hat die Anwesenheit der zweiten Nitrogruppe den gleichen hemmenden Effekt auf die Wirksamkeit der das Hämoglobin oxydierenden Substanz wie die Methylgruppe. Da es sich bei der Katalyse um eine vielfache Umsetzung des gleichen Moleküls handelt, darf man vielleicht vermuten, daß die durch die Vergrößerung des Moleküls gegenüber Phenylhydroxylamin bedingte Verzögerung seiner Beweglichkeit die Ursache dieser kleinen Abweichung ist.

Die Steigerung der Giftigkeit mit Zunahme der Zahl der Nitrogruppen bei einigen Benzolen und Toluolen kann daher nur darauf zurückgeführt werden, daß die Anwesenheit einer zweiten Nitrogruppe die Umwandlung in das katalytische System fördert.

Von den vergifteten Katzen wurden Blutausstriche angefertigt und nach Färbung mit Nilblausulfat auf Heinzkörper untersucht. Das Ergebnis war, daß Nitrophenylhydroxylamin etwas stärker Heinzkörper bildet als die früher untersuchten aromatischen Hydroxylamine.

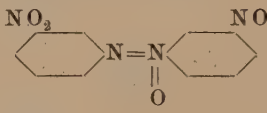
Als Maß für die Intensität der Giftwirkung wurde bisher bewußt nur das Maximum der Methämoglobinbildung herangezogen. Die Betrachtung des Ablaufs der Vergiftung mit Nitrophenylhydroxylamin zeigt aber noch eine Besonderheit. Das Verschwinden des Methämoglobins geht nämlich nicht so schnell wie bei der Vergiftung mit Phenyl- und Tolylhydroxylaminen vor sich. Dies wird besonders deutlich bei Versuchen mit höheren Dosen Nitrophenylhydroxylamin (vgl. Abb. 1). 16 Stunden nach Beginn der Vergiftung wurden noch außerordentlich hohe Mengen Methämoglobin gefunden. Damit unterscheidet sich das Vergiftungsbild in auffallender Weise von demjenigen mit nicht nitrierten aromatischen Hydroxylaminen. Es zeigt aber große Übereinstimmung mit der Dinitrobenzolvergiftung, die, wie eingangs erwähnt, ebenfalls durch die lang anhaltende Methämoglobinbildung charakterisiert ist (vgl. Abb. 1). Auch in der Heinzkörperchenbildung, die bei entsprechenden Dosen schon nach 4—5 Stunden Werte von 70—80% erreicht, besteht eine deutliche Ähnlichkeit beider Verbindungen.

III.

Wie kann nun diese auffällig lang anhaltende Methämoglobinbildung erklärt werden? Die Oxydation des Hämoglobins durch die Nitro- und Aminoverbindungen des Benzols und Toluols erfolgt bekanntlich nach den

[10] Biochem. Z. **301**, 116 (1939).

Untersuchungen von W. Lipschitz[4] und F. Jung[11] im Organismus erst nach Umwandlung dieser Substanzen in ein katalytisches System, das aus einem aromatischen Hydroxylamin und dessen um ein Wasserstoffatom ärmeres Dehydrierungsprodukt besteht. Bei der Einwirkung von Phenylhydroxylamin auf rote Blutkörperchen haben W. Heubner, R. Meier und H. Rhode[5] zeigen können, daß nach eingetretener Methämoglobinbildung Azoxybenzol auskristallisierte. Auf diese Weise kommt eine Entgiftung des katalytischen Systems zustande, denn H. Riedel[12] fand erst bei sehr hohen Dosen Azoxybenzol (200 mg/kg) Methämoglobin. Überträgt man diese Erkenntnisse auf unser Problem, so könnte zur Erklärung der lang anhaltenden Vergiftung der Gedanke herangezogen werden, daß die Kondensation zwischen Nitrophenylhydroxylamin und dem in vivo entstehenden Nitronitrosobenzol sehr viel langsamer zustande kommt. Nach den Untersuchungen von K. Brand[13] ist jedoch das Gegenteil der Fall. Dieser Autor fand nämlich, daß diese beiden Substanzen auch in neutralem Milieu etwa zehnmal schneller zum m-m′-Dinitroazoxybenzol kondensieren als Phenylhydroxylamin und Nitrosobenzol zum Azoxybenzol. Diese Überlegung führte demnach nicht zum Ziel. Dagegen schien es möglich, daß das entstehende nitrierte Azoxybenzol, das bisher nicht untersucht wurde, ein starker Methämoglobinbildner wäre, und so für den protrahierten Vergiftungsablauf verantwortlich gemacht werden könnte. Ich habe daher m—m′-Dinitroazoxybenzol



nach den Angaben von B. Flürscheim[14] hergestellt.

15 g Dinitrobenzol wurden in 100 ccm heißem abs. Alkohol gelöst. Um die Entstehung von Polyazoxyverbindungen zu vermeiden, wurde mit 10 ccm konzentrierter HCl angesäuert und dann im Laufe einer Stunde 20 g Zinnchlorür in alkoholischer Lösung zugegeben. Während dieses Vorgangs wurde das Gemisch laufend auf dem Wasserbad bei 80° gehalten. Anschließend wurde am Rückflußkühler 1 Stunde weiter gekocht. Beim Abkühlen im Eisschrank kristallisierte Dinitroazoxybenzol bereits in feinen Nadeln aus. Das Kristallisat wurde abgetrennt und durch mehrfaches Umkristallisieren in heißem Alkohol gereinigt. Die erhaltene Substanz hatte einen Schmelzpunkt von 141°. Er ist um 2° niedriger als der verlangte. Dies dürfte auf geringe Beimischungen von Polyazoxyverbindungen zurückzuführen sein, die aber für unser Problem bedeutungslos sind. Auf

---

[11] Biochem. Z. **305**, 248; Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 208 (1940); vgl. auch Heubner, W.: Erg. Physiol. **43**, 9 (1940); Klin. Wschr. **1942**, 961. — [12] Noch nicht veröffentlichte Versuche. — [13] Zit. nach Brand, K., u. A. Modersohn: J. prakt. Chem. **120** (2), 160 (1929). — [14] Ebenda **71** (2), 497 (1905).

die weitere Aufarbeitung der Mutterlauge wurde verzichtet, da die erhaltene Menge für unsere Zwecke ausreichte.

3-3′-Dinitroazoxybenzol wurde den Katzen in öliger Suspension intraperitoneal verabreicht. In Dosen von 5 mg/kg und 30 mg/kg war die Substanz völlig wirkungslos. Erst bei der hohen Dosis von 200 mg/kg war Methämoglobin deutlich nachweisbar.

Die beiden Nitrogruppen gehen offenbar im Organismus keine Reaktion ein, denn der Ablauf der Vergiftung entspricht völlig dem von H. Riedel [10] mit Azoxybenzol erhaltenen Ergebnis. Dies gilt auch für das Auftreten

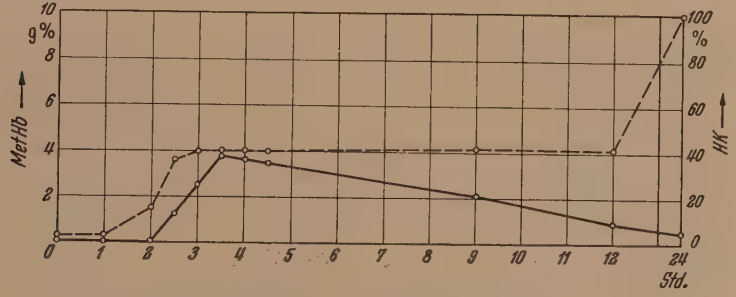


Abb. 2. Methämoglobin: ——— und Heinzkörperchen: — — — nach 200 mg/kg 3,3′-Dinitroazoxybenzol.

der Heinzkörper, die sowohl nach der Vergiftung mit Azoxybenzol wie Dinitroazoxybenzol am zweiten Tage in sämtlichen Erythrocyten gefunden wurden.

Die naheliegende Annahme, daß die lange Dauer der Vergiftung durch die Reduktion der beiden Nitrogruppen im Dinitrobenzol hervorgerufen wird, schien mir aus theoretischen Gründen bedenklich. Denn, wie eingangs bemerkt, ist selbst die Reduktion einer Nitrogruppe zum Hydroxylamin im Dinitrobenzol in vitro nur unter sorgfältiger Einhaltung ganz bestimmter Bedingungen möglich. Aus der Tatsache, daß sonst häufig Nitroanilin oder Dinitroazoxybenzol erhalten werden, geht deutlich hervor, daß die Reduktion nicht gerne auf der Hydroxylaminstufe stehenbleibt.

Bei der oben erwähnten Reduktion müßte aber sogar ein Dihydroxylamin eine Zeitlang im Körper vorhanden sein. Diese sicher außerordentlich unbeständige Substanz ist bisher noch nicht dargestellt worden. Trotzdem lieferten weitere Versuche mit Nitrophenylhydroxylamin gewisse Anhaltspunkte dafür, daß eine derartige Reduktion im Organismus vielleicht doch möglich ist. Die Reduktion beider Nitrogruppen könnte überdies die Kondensation zum Azoxybenzol erschweren und so die Entstehung eines unwirksamen Produktes verzögern. Es zeigte sich nämlich in einigen Versuchen ein deutlich zweiphasischer Verlauf (vgl. Abb. 3).

Die erste Phase, charakterisiert durch schnellen Anstieg und stärkste Methämoglobinbildung, ist ohne Zweifel auf die Wirkung der Hydroxyl-

amingruppe zurückzuführen. Das Maximum ist nach 2—3 Stunden erreicht, Nach einem vorübergehenden Abfall setzt ein erneuter Anstieg der Oxydation des Blutfarbstoffs ein, der wohl nur durch die Annahme gedeutet werden kann, daß hierbei die reduzierte zweite Nitrogruppe eine Reaktion mit dem Hämoglobin eingeht. Ein derartiger Vergiftungsablauf fand sich unter 9 Versuchen dreimal. Daß nicht alle Versuchstiere diesen zweiphasischen Verlauf der Methämoglobinbildung erkennen lassen, kann daran liegen, daß die Rückbildung des in der ersten Phase entstandenen Methämoglobins nicht immer mit der gleichen Schnelligkeit vor sich geht. Bei geringer Rückbildungsfähigkeit würde dann die erste Phase unmittelbar in die zweite übergehen.

Ich habe versucht, diesen zweiphasischen Verlauf im Versuch am Kaninchen deutlicher herauszustellen, von dem uns bekannt ist, daß es

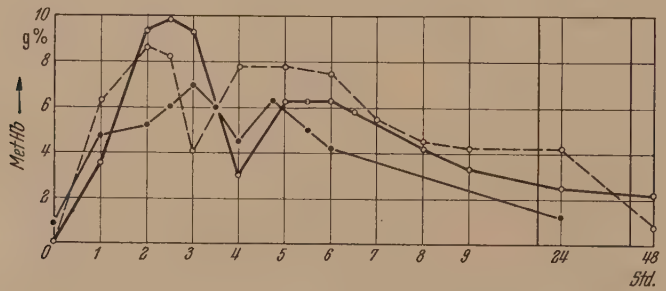


Abb. 3. Methämoglobin im Blute von 3 Katzen nach 5 mg/kg Nitrophenylhydroxylamin.

Methämoglobin außerordentlich schnell zurückbildet. Es zeigte sich aber, daß dieses Tier sehr unempfindlich gegen Nitrophenylhydroxylamin ist. Selbst nach Dosen von 40 mg/kg entstand nur etwa 4 g% Methämoglobin, das schon nach 3 Stunden zurückgebildet war.

Für die Erklärung der protrahierten Vergiftung, besonders für den zweiphasischen Ablauf kann schließlich noch der Gedanke herangezogen werden, daß die Hydroxylamingruppe im Körper zum Amin reduziert wird, und die Substanz als m-Nitroanilin erneut eine Reaktion eingeht. Eine Umwandlung von m-Dinitrobenzol in m-Nitroanilin durch tierische Gewebe wurde bisher noch nicht einwandfrei nachgewiesen, aber mit gärender Hefe haben C. Neuberg und E. Reinfurth[15] eine derartige Reduktion durchgeführt. Es muß aber erwähnt werden, daß m-Nitroanilin ein zu schwacher Methämoglobinbildner ist, um den erneuten Anstieg befriedigend zu erklären (vgl. S. 72).

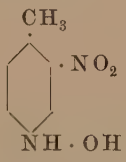
IV.

Zum Schluß habe ich noch Nitrotolylhydroxylamin hergestellt, um die Frage zu prüfen, ob sich der langdauernde Vergiftungsverlauf auch bei anderen nitrierten aromatischen Hydroxylaminen vorfindet. Gleich-

[15] Biochem. Z. **138**, 561 (1923).

zeitig sollte hierbei geklärt werden, welchen Einfluß die zusätzliche Einführung einer Methylgruppe auf die Wirkungsintensität derartiger Verbindungen ausübt.

2, 4-Dinitrotoluol wurde in der gleichen Weise reduziert wie m-Dinitrobenzol. Nach Absaugen auf einer Nutsche wurde das Filtrat im Vakuum eingeengt. Die Kristallisation des Nitro-Tolylhydroxylamins setzte beim Abkühlen auf 0° ein. Die rohe Substanz wurde auf einer Nutsche gut mit Wasser ausgewaschen, das durch Zusatz von einigen Tropfen konz. HCl angesäuert war. Das aus heißem Benzol umkristallisierte Produkt schmolz bei 108°. Die Verbindung hat demnach wahrscheinlich folgende Struktur[16]:



Nach einer Injektion von 4 mg/kg Nitrotolylhydroxylamin fand ich einen ebenso langen Vergiftungsablauf wie bei den Versuchen mit Nitrophenylhydroxylamin (Abb. 4).

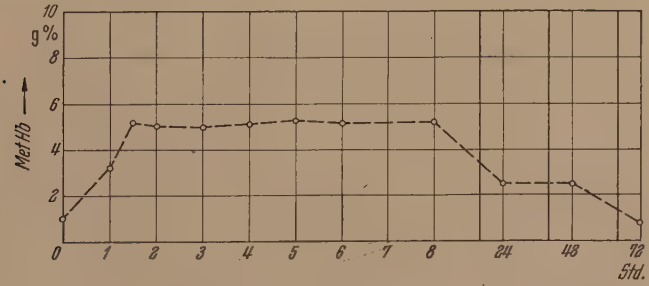


Abb. 4. Methämoglobin nach 4 mg/kg Nitrotolylhydroxylamin.

Zum Vergleich der Wirkungsintensität dieser Substanz mit den vorher untersuchten aromatischen Hydroxylaminen wurden Versuche mit äquimolaren Mengen vorgenommen: vgl. Tabelle 2.

Die Methylsubstitution im Nitrophenylhydroxylamin führt also zu keiner weiteren Herabsetzung der Wirksamkeit, denn der Durchschnittswert für das Val/Mol-Verhältnis beträgt hier wie in den Versuchen mit Nitrophenylhydroxylamin 20.

Dinitrotoluol bildet im Verhältnis zum Dinitrobenzol nur wenig Methämoglobin. Nitrotolylhydroxylamin ist aber außerordentlich wirksam. Daraus ergibt sich, daß hier ebenso wie bei den mononitrierten Verbindungen durch die Methylsubstitution die Umwandlung in das katalytische, das Hämoglobin oxydierende System erschwert wird.

[16] Vgl. Brand: Ber. dtsch. chem. Ges. 40, 3333 (1907).

Tabelle 2. Akute Versuche mit Nitrotolylhydroxylamin.
Der Hb.-Wert wurde unter der Annahme von 75 ccm Blut/kg Tier berechnet, der Methb.-Wert unter Abzug des Ausgangswertes.

Bez. des Tieres	Dosis in mg/kg	Dosis in Mol 10^{-5}	Mittlerer Hb.-Wert des Tieres in g%	Hb.-Wert in Val 10^{-4} kg Tier 75 ccm Blut	Methb. im Max. unter Abzug des Ausgangswertes rel. %	Methb. in Val je kg Tier 10^{-5}	Max. der Vergiftung in Std.	Val/Mol-Verhältnis	Heinzkörper in %		
									Beg.	Ende	Diff.
G	1,6	0,917	9,79	4,6	32	16	3	17	36	38	2
22	1,6	0,917	11,1	5,2	39	21	$2^1/_2$	23	—	—	3
S	1,6	0,917	9,67	4,5	39	17	$2^1/_2$	19	25	27	2
						Mittel:	$2^2/_3$	20			

Zusammenfassung.

1. Es wurde die Methämoglobinbildung durch Nitrophenyl-, Nitrotolylhydroxylamin und 3, 3′-Dinitroazoxybenzol untersucht.

2. Nitrophenylhydroxylamin ist weniger wirksam als Phenylhydroxylamin, aber ebenso giftig wie die 3 Isomeren des Tolylhydroxylamins. Die Substitution des Phenylhydroxylamins mit einer NO_2-Gruppe in m-Stellung übt die gleiche geringfügige Hemmung auf die Wirkung des katalytischen, das Hämoglobin oxydierenden Systems aus wie die Einführung einer Methylgruppe. Die zweite Nitrogruppe fördert aber bei den Nitrobenzolen und den Nitrotoluolen die Umwandlung in die katalytische Substanz.

3. 3, 3′-Dinitroazoxybenzol bildet erst in hohen Dosen (200 mg/kg) Methämoglobin.

4. Die Vergiftung mit höheren Dosen Nitrophenylhydroxylamin unterscheidet sich durch die lange Dauer der Methämoglobinbildung von den nicht nitrierten aromatischen Hydroxylaminen. Einige Versuche lieferten Anhaltspunkte, daß hierfür die Reduktion der Nitrogruppe im Nitrophenylhydroxylamin verantwortlich ist.

5. Nitrotolylhydroxylamin ist ebenso wirksam wie Nitrophenylhydroxylamin. Die zusätzliche Substitution mit einer Methylgruppe hat daher keinen weiteren hemmenden Effekt auf die Methämoglobinbildung. Dinitrotoluol bildet im Verhältnis zum Dinitrobenzol nur wenig Methämoglobin, Nitrotolylhydroxylamin aber ist sehr wirksam; daraus ergibt sich, daß die Methylsubstitution hier ebenso wie bei Mononitrotoluol die Umwandlung in das katalytische System erschwert.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Kiel.

Über den Wirkungsmechanismus der Sympathicomimetica*.

XIII. Mitteilung: Wirkungen von Sympathicomimeticis auf den sensiblen Nerven.

Von

Gerhard Orzechowski.

(Marinestabsarzt d. R.)

(Eingegangen am 13. März 1943.)

Der eigentliche Ausgangspunkt für diese Untersuchungsreihe waren theoretische Erwägungen. Beim Ephedrin und seinen kreislaufwirksamen Abkömmlingen ist ein eigenartiges Phänomen zu beobachten. Wenn man bei intravenöser Zufuhr dieser Stoffe nach Abklingen einer vorangehenden Dosis dieselbe Menge wieder injiziert, dann zeigt sie nicht mehr die gleichen Ausschläge in der Blutdrucksteigerung. Die Höhe des Blutdruckanstieges der ersten Dosis wird nicht mehr erreicht. Wenn die intravenöse Gabe ein paarmal nacheinander verabreicht wird, so wird früher oder später ein Punkt erreicht, wo überhaupt keine Reaktion auf die Zufuhr der kreislaufwirksamen Stoffe mehr erfolgt. Dieses Phänomen hat den Namen „Tachyphylaktische Reaktion" erhalten. Es konnte eine stoffliche Grundlage haben. Für die Zustandsänderung der Tachyphylaxie konnte folgender Gedankengang aufgebaut werden. Jeder Wirkung eines pharmakologisch wirksamen Stoffes wird eine chemische oder physikochemische Reaktion des Stoffes mit gewissen affinen Bauelementen am Wirkort zugeordnet. Über diesen Vorgang ist bei den Ephedrinderivaten nichts Genaueres bekannt. Es besteht jedoch die Möglichkeit, ohne spezielle chemische Voraussetzungen allein durch formale Betrachtungen neue Gesichtspunkte zu gewinnen, wie in den vorangegangenen Mitteilungen gezeigt werden konnte[1]. Es liegt nahe, sich bei einem Stoff, der als Ersatz für das Adrenalin therapeutisch brauchbar ist, also vor allem weniger leicht zerfallen kann, Gedanken darüber zu machen, wo er bleibt. Dabei wurde in dieser Untersuchungsreihe vorgeschlagen, als orientierendes Prinzip die Grenzflächenaktivität versuchsweise anzusetzen. Diese Annahme hat sich in der Physiologie und besonders in der Pharmakologie als Antwort auf die Frage, was einen im Blut gelösten Stoff veranlassen kann, diesen Lösungsraum zu verlassen, gut bewährt. Die schlagartige Wirkung vergleichsweise winziger Mengen von Adrenalin läßt die gewählte Vorstellung noch zwangloser erscheinen. Eine wichtige Voraussetzung für die physiologische Brauchbar-

* Herrn Professor Heubner zum 65. Geburtstag.

[1] Verh. dtsch. pharmak. Ges. 1938; Rosenmund: Inaug.-Diss. 1938. Kiel; Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 237, 245, 253, 260, 469, 473 (1940); **197**, 384, 391; **198**, 27 (1942).

keit der „humoralen Übertragung" eines Nervenreizes ist, daß der Überträgerstoff vom Organismus leicht gesteuert werden kann. Sie wird am besten gewährleistet, wenn der Stoff rasch zerstört werden kann. Dies kann therapeutisch ein Nachteil sein. Wird dieser Nachteil beseitigt, dann ist eine Veränderung der Reaktionsfähigkeit des Rezeptors zu erwarten. Wenn nämlich die Haftfähigkeit des Stoffes nicht zu gering ist, dann wird die nächste Gabe des Stoffes noch einen Teil der vorangegangenen Dosis an der spezifischen Grenzfläche antreffen. Wenn keine chemischen Veränderungen an dem Wirksubstrat oder dem Wirkstoff eintreten, dann kann die Entstehung der Tachyphylaxie ein direktes Maß für die Haftfähigkeit sein. In Verfolgung dieses Gedankenganges ließ sich zeigen, daß die Wirkungsabschwächung auch nach vorangegangener „Beladung" mit anderen Stoffen auftritt. Der Kernpunkt dieses Gedankenganges ist die pharmakologische Analyse eines von einer Substanz erzeugten Phänomens mit rein stofflichen Überlegungen. Damit würde allerdings zu fordern sein, daß chemisch ähnlich gebaute Stoffe, auch ohne daß sie als kreislaufwirksame Stoffe Beachtung verdienen, auf Grund eben ihrer chemischen Ähnlichkeit an die gleichen Zellorte adsorbiert werden. Solche Gedankengänge sind heute nicht mehr so selten wie in der Zeit, als sie zuerst ausgesprochen wurden. Sehr bekannt geworden ist heute die Theorie über die Wirkungsweise der Sulfonamide als Verdrängung der als Vitamin H′ erkannten p-Aminobenzoesäure[2]. Für unsere eigenen Auffassungen erschienen manche Aminosäuren von Wichtigkeit, besonders das Tyrosin. Es zeigte eine Wirksamkeit[3], die zu unseren Vorstellungen paßte. Sogar noch bei den Lokalanaestheticis[4] ließ sich das Prinzip auffinden.

Die vorgeschlagene Betrachtungsweise läßt auch die Möglichkeit der Umkehrung zu. Wenn der betrachteten Reaktion eine Affinität der Bauelemente von Wirkort und Wirkstoff zugrunde liegt, dann könnte man denken, daß auch manche Sympathicomimetica eine Wirkung auf die sensiblen Nerven in Richtung der Lokalanaesthetica entfalten. Darüber mußte das Experiment entscheiden, hatte sich doch am Kreislauf gezeigt, daß Wirksamkeit an den spezifischen Substraten nicht gleichbedeutend mit Kreislaufwirksamkeit ist. In einer vorangegangenen Mitteilung hat Kießig[5] die Wirksamkeit einiger Sympathicomimetica auf die Cornea des Kaninchens geprüft. Dabei zeigten Ephedrin, „Sympatol", „Veritol", Benzedrin und „Pervitin"* in kleinen Konzentrationen an der Cornea übereinstimmend schwache lokalanästhetische Wirkung. Ephedrin erzeugte in 20%iger Lösung an der Kaninchencornea eine deutliche Sensibilitätsherabsetzung. Aber nur beim Ephedrin erfolgte parallel zur Konzentrationszunahme eine Steigerung der lokalanästhetischen Wirkung bis

[2] Fildes u. Woods: Chem. indust. **59**, 133 (1940); Lancet **1940**, I, 955; Brit. J. exper. Path. **21**, 67, 74 (1940); Kuhn: Die Chemie **55**, 1 (1942). — [3] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 469 (1940). — [4] Ebenda S. 260. — [5] Schmerz usw., im Druck.

* Warenzeichen. Im folgenden werden der Kürze wegen die geschützten Namen verwendet.

zu einem mit den eigentlichen Lokalanaestheticis vergleichbaren Ausmaß. Damit wurden die früher von Misgeld[6] erhobenen Befunde bestätigt. Misgeld hat für das Ephedrin als Wirksamkeitsgrenze am Froschischiadicus eine Konzentration von 3,5 %, am Peroneus der Katze eine solche von 5 % gefunden. An der Kaninchencornea konnte Kießig für die anderen Stoffe bei Steigerung der Konzentration sehr bald eine Reizwirkung beobachten, die die Auswertung der Versuche erschwerte. Daher wurden diese Stoffe noch einmal am Ischiadicus des Frosches geprüft*.

Die gewählte Versuchsanordnung entsprach dem Türkschen Präparat. Ein Frosch wurde decerebriert, die Decerebrierungsfolgen wurden abgewartet. Dann wurde der N. ischiadicus freigelegt und der Frosch durch Einlegung der Branchen eines federnden Bügels in das Maul senkrecht aufgehängt. Die Reizung erfolgte wie üblich mit einer schwachen Essigsäurelösung. Als Reizerfolg wurde die reflektorische Beugung des Schenkels gewertet. Die zu untersuchende Lösung wurde auf einem Wattebäuschchen mit dem N. ischiadicus in Berührung gebracht. Nachdem die Anästhesie eingetreten war, wurde das Wattebäuschchen mit der Untersuchungsflüssigkeit entfernt und durch ein solches mit Ringerlösung ersetzt. Die Zeit bis zur Wiederkehr der Ausgangserregbarkeit wurde ermittelt. Um sicher zu sein, daß die Wirkung völlig reversibel ist, wurde in zahlreichen Fällen an den ersten Versuch nach Abklingen der Wirkung noch ein zweiter Versuch angeschlossen.

Zur Untersuchung gelangten die Stoffe:

1. (—)-1-Phenyl-2-methylaminopropan-1-ol-hydrochlorid = l-Ephedrin.
2. (rac)-1-p-Oxyphenyl-2-methylaminoäthan-1-ol-tartrat = Sympatol.
3. (rac)-1-Phenyl-2-aminopropan-sulfat = Benzedrin.
4. (rac)-1-p-Oxyphenyl-2-methylaminopropan-sulfat = Veritol.
5. (+)-1-Phenyl-2-methylaminopropan-hydrochlorid = Pervitin.
6. β-Tetrahydro-naphthylamin-hydrochlorid.

Das Adrenalin wurde wegen seiner raschen Zerstörbarkeit nicht in den Versuchsplan aufgenommen.

Im folgenden werden die Anlage und die Ergebnisse der Versuche in Tabellenform mitgeteilt.

1. Versuch				2. Versuch			
Stoff	Konzentration in %	Eintritt der Anästhesie nach Min.	Dauer der Anästhesie in Min.	Stoff	Konzentration in %	Eintritt der Anästhesie nach Min.	Dauer der Anästhesie in Min.
Ephedrin	3	65	180	Ephedrin	3	75	—
„	3	75	190	„	3	65	65
„	3	75	140	Veritol	3	45	†
„	2	90	90	—	—	—	—
„	2	85	85	—	—	—	—
„	1	125	220	—	—	—	—
„	0,1	∞	—	—	—	—	—

[6] Schmerz usw. 6, 33 (1934); vgl. auch Kochmann: Klin. Wschr. 1931, I, S. 408.

* Die Versuche wurden von Fräulein Elisabeth Dankemeyer ausgeführt.

Die Versuchsergebnisse bestätigen die Ergebnisse von Misgeld. Die Grenzkonzentration lag bei etwa 1 % und stimmt damit größenordnungsmäßig mit der von ihm angegebenen Konzentration von 3,5 % überein.

Mit „Sympatol" wurden folgende Ergebnisse erzielt:

1. Versuch				2. Versuch			
Stoff	Konzentration in %	Eintritt der Anästhesie nach Min.	Dauer der Anästhesie in Min.	Stoff	Konzentration in %	Eintritt der Anästhesie nach Min.	Dauer der Anästhesie in Min.
Sympatol	5	35	150	Sympatol	3	45	†
„	3	70	145	—	—	—	—
„	2	125	125	Sympatol	2	90	†
„	2	140	120	„	2	63	720
„	1	∞	—	—	—	—	—

Die Versuche zeigen, daß auch das Sympatol die Leitfähigkeit der Nerven reversibel aufhebt. Die auffällige Verlängerung der Wirkung im zweiten Versuch, die in zwei Fällen bis zum Absterben des Präparates andauerte, deutet darauf hin, daß in der Wirkung schädigende Komponenten enthalten sein können.

Die Ergebnisse der Untersuchungen am „Veritol" sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

1. Versuch				2. Versuch			
Stoff	Konzentration in %	Eintritt der Anästhesie nach Min.	Dauer der Anästhesie in Min.	Stoff	Konzentration in %	Eintritt der Anästhesie nach Min.	Dauer der Anästhesie in Min.
Veritol	2	110	150	—	—	—	—
„	3	70	55	Veritol	3	40	35
„	3	75	60	„	3	30	150
„	3	90	180	„	3	30	55
„*)	3	45	130	„	3	75	45
„	1	195	270	—	—	—	—
„	1/2	∞	—	—	—	—	—

*) Dekapitierter Frosch.

Das Veritol zeigte am sensiblen Nerven des Frosches eine ähnliche Wirkung wie das Ephedrin. Die Leitung des Nerven wurde reversibel aufgehoben. Diese Wirkung ließ sich am gleichen Präparat wiederholen.

Die Ergebnisse mit dem „Pervitin" zeigt die folgende tabellarische Zusammenstellung (S. 83).

Das Pervitin zeigt also qualitativ die gleichen Ergebnisse wie die vorher beschriebenen Stoffe. Dabei bleibt es bis in hohe Verdünnungen hinauf wirksam. Eine Übereinstimmung zwischen Stärke und Dauer der Wirkung bestand anscheinend nicht. Dazu kann als Erklärung zur Zeit nur angegeben werden, daß die in den letzten vier Versuchen benutzten Frösche aus einer anderen Tierlieferung stammten, und die Versuche später angestellt worden sind. Vielleicht sind die im Institut überwinterten

1. Versuch				2. Versuch			
Stoff	Konzentration in %	Eintritt der Anästhesie nach Min.	Dauer der Anästhesie in Min.	Stoff	Konzentration in %	Eintritt der Anästhesie nach Min.	Dauer der Anästhesie in Min.
Pervitin	2	12	780	Pervitin	2	15	30
„	1	40	600	„	1	20	35
„	1	35	720	„	1	25	50
„	1/2	35	250	—	—	—	—
„	1/2	60	95	—	—	—	—
„	1/4	85	127	Pervitin	1/4	8	—
„	1/4	98	135	Ephedrin	3	12	840
„	1/4	90	145	Veritol	3	85	660
„	1/10	60	600	—	—	—	—
„	1/10	85	600	—	—	—	—
„	1/100	170	480	—	—	—	—
„	5/1000	∞	—	—	—	—	—

Frösche nicht zu allen Zeiten von gleicher Empfindlichkeit. Es besteht Grund zu der Annahme, daß gegen Ende des Winters die stark abgemagerten Tiere empfindlicher werden.

Ähnlich der Pervitinwirkung verhielt sich die Wirkung des „Benzedrins".

Stoff	Konzentration in %	Eintritt der Anästhesie nach Min.	Dauer der Anästhesie in Min.
Benzedrin	2	2	720
„	2/10	37	330
„	1/10	48	300
„	1/100	90	270
„	5/1000	∞	—

In diese Reihe von Untersuchungen wurde ein Stoff aufgenommen, dessen chemische Beziehung zu der Ephedrinreihe nicht ohne weiteres

1. Versuch				2. Versuch			
Stoff	Konzentration in %	Eintritt der Anästhesie nach Min.	Dauer der Anästhesie in Min.	Stoff	Konzentration in %	Eintritt der Anästhesie nach Min.	Dauer der Anästhesie in Min.
β-Tetrahydronaphthylamin	2	2	†	—	—	—	—
	2	3	†	—	—	—	—
	1	7	†	—	—	—	—
	1	4	1280	—	—	—	—
„	1/10	15	840	—	—	—	—
„	1/10	20	180	β-Tetrahydronaphthylamin	5/100	5	†
„	5/100	29	86		5/100	6	94
„	5/100	33	73		5/100	6	75
„	1/100	65	35	—	—	—	—
„	1/100	72	65	—	—	—	—
„	1/100	110	74	β-Tetrahydronaphthylamin	5/1000	95	105
„	5/1000	∞	—	—	—	—	—

ersichtlich ist, das β-Tetrahydronaphthylamin. Seine sympathicuserregende Wirksamkeit ist jedoch gut bekannt. In früheren Mitteilungen[1] ließ sich zeigen, daß dieser Stoff wirkungsmäßig gut in den zugrunde gelegten Versuchsplan hineinpaßt. Die Versuchsergebnisse sind in der vorhergehenden Tabelle (S. 83) zusammengestellt.

Die Wirkungsstärke des β-Tetrahydronaphthylamins entspricht etwa der von Pervitin und Benzedrin. Der Wirkungseintritt erfolgt noch rascher. Auch hier entstand beim zweiten Versuch der Eindruck der gestiegenen Empfindlichkeit.

Zu Vergleichszwecken wurde die Wirkung von Novocainhydrochlorid mit gleicher Technik und am gleichen Tiermaterial studiert.

1. Versuch				2. Versuch			
Stoff	Konzentration in %	Eintritt der Anästhesie nach Min.	Dauer der Anästhesie in Min.	Stoff	Konzentration in %	Eintritt der Anästhesie nach Min.	Dauer der Anästhesie in Min.
Novocain	1	2	70	Novocain	1/10	8	†
„	1	3	65	„	1/10	12	120
„	1/10	9	180	„	1/10	15	80
„	1/100	252	57				

Aus dem Vergleich der Wirkung der vorher beschriebenen Stoffe mit der von Novocain an dem Leitvermögen des sensiblen Froschnerven ergibt sich, daß die Wirksamkeit der stärksten Stoffe beider Klassen größenordnungsmäßig übereinstimmt. Auch die Erscheinung der Empfindlichkeitssteigerung bei Wiederholung des Versuches ist allen Stoffen eigen.

Zusammenfassung.

1. Bei der Untersuchung der reversiblen Unterbrechung des Leitvermögens des sensiblen Froschnerven erwiesen sich Ephedrin, „Sympatol", „Veritol", Benzedrin, „Pervitin" und β-Tetrahydronaphthylamin als wirksam.

2. Die stärkstwirksamen „Benzedrin", „Pervitin" und β-Tetrahydronaphthylamin wurden mit „Novocain" verglichen. Die Wirkungsstärke der beiden Stoffklassen stimmte größenordnungsmäßig überein.

3. Die Ergebnisse der Untersuchungen wurden als Stütze für den eingangs geschilderten Gedankengang gedeutet. In früheren Untersuchungen ließen sich Beziehungen der Lokalanaesthetica zu den Sympathicomimeticis aufdecken, die mit dem chemisch ähnlichen Aufbau erklärbar sind. Die vorliegende Mitteilung beschreibt in Umkehrung des Gedankenganges lokalanästhetische Wirkungen bekannter Sympathicomimetica.

Aus der Medizinischen Universitäts-Klinik Köln (Lindenburg).
(Prof. Dr. H. W. Knipping.)

Sauerstoffmangel und Säurebasengleichgewicht.

I. Mitteilung: Zur Frage der hypoxydotischen Gewebsacidose.

Von

Prof. Dr. C. Dienst.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 22. März 1943.)

O_2-Mangel im Gewebe bringt man gewöhnlich mit einer mangelhaften O_2-Versorgung durch das Blut in Verbindung. Das Blut nimmt nämlich als Transportorgan im O_2-Haushalt eine Schlüsselstellung ein. Vom Blute gehen ferner bei Hypoxämie zahlreiche Regulationsvorgänge aus, die eine hinreichende O_2-Versorgung der Gewebe bezwecken. Das ist ein weiterer Grund, O_2-Mangel im Organismus als hypoxämisch aufzufassen.

Der O_2-Bedarf wird andererseits aber auch von den Ansprüchen des Gewebes bestimmt. Steigerungen des Gewebsstoffwechsels über die Leistungsfähigkeit des Blutes hinaus vermag natürlich ebenfalls zur Manifestation eines O_2-Mangels im Gewebe beizutragen. Es kann ferner erwartet werden, daß, ebenso wie das Blut, auch die Zelle stoffwechselregulatorische Maßnahmen trifft, um Folgen eines O_2-Mangels abzuwehren. Diese Möglichkeiten werden zu Unrecht vollkommen ignoriert, wenn man O_2-Mangelzustände im Organismus grundsätzlich nur als hypoxämisch auffaßt. Es sei daher im folgenden versucht, zunächst die Gewebsregulation bei O_2-Mangel zu diskutieren.

Über die Wirkung eines Sauerstoffmangels im allgemeinen kann gesagt werden, daß O_2-Mangel eine Minderung der Oxydationsvorgänge bedingt. Eine mangelhafte Oxydation aber läßt den intermediären Stoffwechsel auf einer Zwischenstufe stecken und saure Stoffwechselprodukte auftreten. Die Gewebshypoxydose könnte somit zur Ursache der Gewebsacidose werden.

Von einer Gewebsacidose muß man aber, wenn man nicht mit einem fiktiven Begriff operieren will, verlangen, daß sie sich auch konkret nachweisen läßt. Gerade hier liegen die Schwierigkeiten eines höchst aktuellen und umstrittenen Problems. Mit einer Übersäuerung des Organismus möchte man eine Unzahl von Krankheiten in Verbindung bringen, Übersäuerung ist namentlich bei Ganz- oder Halblaien zu einem Schlagwort geworden.

Eine Gewebsacidose durch direkte Messung nachzuweisen, ist allerdings meist unmöglich. Selbstverständlich kann nicht aus einer

Acidose im Blute auf die Existenz einer Acidose im Gewebe rückgeschlossen werden, obwohl dies immer behauptet wird. Das lebende Gewebe aber ist direkten Untersuchungsmethoden gewöhnlich nicht zugänglich. Und selbst wenn dies der Fall wäre, könnte eine „acidotische Tendenz" im Gewebsstoffwechsel bestehen, auch wenn p_H oder Alkalireserve im Blute normal oder gar zum Alkalischen verschoben wären. Der Begriff der Acidose war immer schon die Veranlassung zu Mißverständnissen. Der Grund liegt zum Teil darin, daß der Wert des p_H oder der Alkalireserve, der zum Beweis einer Acidose verlangt wird, nur Einblick in eine momentane Phase des Stoffwechselablaufs gestattet. In Wirklichkeit aber sind alle Lebensvorgänge in ständiger Bewegung und müssen deshalb auch so erfaßt werden. Die Acidose als Störung einer wichtigen Lebenskonstanten löst selbstverständlich Gegenregulationen aus, so daß reaktiv die Säurebasenverhältnisse normal und sogar zum Alkalischen verschoben sein können. Wer von statischer Betrachtungsweise ausgeht, wird dann Alkalose nennen, was der andere, der das dynamische Geschehen im Auge hat, als Reaktion einer Acidose ansieht. Natürlich gibt es auch eine echte Gewebsacidose, aber nur dann, wenn die Pufferkapazität der Gewebe erschöpft ist. Grundsätzlich aber lassen sich Mißverständnisse vermeiden, wenn man den Funktionsablauf dadurch zum Ausdruck bringt, daß man von einer „acidotischen Tendenz" im Stoffwechselgeschehen spricht [Dienst (1)].

Wenn aber eine acidotische Tendenz im Gewebe als Verschiebung des Säurebasengleichgewichts nicht zum Ausdruck zu kommen braucht, und ihr direkter Nachweis oft unmöglich ist, so müßte man versuchen, nach intermediären Stoffwechselstörungen bei O_2-Mangel zu fahnden, durch die sie sich indirekt objektivieren ließe.

Die Frage ist nun die, gibt es überhaupt Stoffwechselreaktionen auf O_2-Mangel im Gewebe und lassen diese Anhaltspunkte erkennen, die auf acidotische Tendenz im Stoffwechsel hindeuten?

Versuchen wir die Antwort darauf zunächst bei der „hypoxämischen" Herzmuskelnekrose.

Von ihr ist bekannt, daß sie mehrere Stunden nach dem Eintritt akuten O_2-Mangels sich entwickelt, und daß ihr reversible Veränderungen im Gewebe vorausgehen, die sich im Elektrocardiogramm dokumentieren [Büchner (2)]. Letztere stehen mit der Nekrose selbst nicht in Zusammenhang, denn sie sind vorhanden, ehe diese nachzuweisen ist. Sie dürften ebensowenig durch die Hypoxämie bedingt sein, denn sie treten erst mehrere Stunden nach dem Einsetzen der Hypoxämie auf. Demnach können die Änderungen der elektrischen Spannungskurve nur als Folgen hypoxischer Stoffwechselstörungen im Gewebe aufgefaßt werden. Ähnlich liegt die Sache bei der eigentlichen Nekrose. Würden die nekrotischen Veränderungen sofort nach Drosselung der O_2-Zufuhr aufzutreten beginnen, könnten sie ausschließlich als Folge einer Asphyxie angesehen werden. Da sie erst viele Stunden nach dem Sauerstoffmangel eintreten, werden sie eher mit den gleichen Stoffwechselveränderungen in Verbindung zu bringen sein, die auch die

elektrocardiographische Störung verursachen. Leben erlöscht offenbar nicht wie das Licht einer Flamme, sondern wehrt sich gegen das Sterben.

Über die unter O_2-Mangel im Herzmuskel einsetzenden Stoffwechselvorgänge können wir uns heute bestimmte Vorstellungen machen.

In Analogie zu den Veränderungen am Skeletmuskel darf angenommen werden, daß auch am Herzmuskel vorwiegend der KH-Haushalt in Mitleidenschaft gezogen wird. Darauf deutet die Tatsache hin, daß der Glykogenbestand des Herzens bei O_2-Mangel abnimmt [Schumann (3)]. Es kann weiter angenommen werden, daß auch beim Herzmuskel unter O_2-Mangel Schlacken aus dem KH-Stoffwechsel nicht genügend durchoxydiert werden, also im Gewebe zurückbleiben und Veränderungen des Säurebasenhaushalts im Sinne der acidotischen Tendenz auslösen.

Wir haben also greifbare Gründe, die den Verdacht auf Veränderungen der Stoffwechselregulation des Herzmuskelgewebes im Sinne der acidotischen Tendenz bei sog. „hypoxämischer" Nekrose rechtfertigen.

Diese Annahme läßt sich allerdings durch direkte Messungen im Herzmuskel aus naheliegenden Gründen nicht beweisen. Als Parallele könnte man aber Messungen an oberflächlich gelegener, für Untersuchungen leichter zugängiger Nekrose heranziehen, wie sie z. B. beim Furunkel auftritt. Auch bei dieser entzündlichen Nekrose erfolgt durch Verlangsamung des Blutstromes u. U. bis zur völligen Stase [Aschoff (4)] eine unzulängliche O_2-Versorgung des Gewebes. Abnahme der Sauerstoffspannung — möglicherweise in direkter oder indirekter Verbindung mit Bakterien- oder Zellzerfallsprodukten — veranlaßt dann die Nekrose.

Innerhalb dieser entzündlichen Nekrose hat man erhebliche Verschiebungen der H-Ionenkonzentration zur sauren Seite gemessen [Schade (5)].

Eine p_H-Zahl von 5,4—6,1 im Zentrum des Furunkels zeigt über Werte von 6,1—6,3 in der entzündlichen infiltrierten Zone und einem p_H von 6,9—7,3 in der Randzone des peripheren Ödems, p_H-Verschiebungen bis zum Normalwert des Gewebes von 7,3—7,5. Im Bereiche der Nekrose ist also die Acidose am stärksten, in dem Maße wie O_2-Versorgung in den Randzonen besser wird, wird die Acidose geringer. Im noch lebensfähigen entzündeten Gewebe ist die Reaktion, wie durch Messungen an Exzidiertem festgestellt ist, nur leicht zum Sauren verlagert (p_H 6,8) oder normal. Eine lokale Gewebsacidose kann übrigens auch bei einwandfrei steriler Entzündung vorkommen [Schade und Mitarbeiter (6)]. Die Tätigkeit von Bakterien ist also ein für die Acidoseentstehung höchstens nebensächlicher Faktor.

Bei der Zellgewebsnekrose entwickelt sich also unter dem Einfluß eines O_2-Mangels eine manifeste Acidose. An diesem, durch direkte Messungen geklärten Zustand wollen wir nunmehr versuchen, die bei Gewebsacidose sich abwickelnden Stoffwechselvorgänge zu ergründen.

Es ist selbstverständlich, daß eine manifeste Acidose nicht ohne weiteres entstehen kann. Der Körper ist gegen Verschiebung der H-Ionenkonzentration weitgehend gesichert. Bevor eine manifeste Acidose im Gewebe auftreten kann, müssen die Pufferreserven der Gewebe und

Gewebssäfte erschöpft sein. Auch darüber lassen die je nach der Intensität des Sauerstoffmangels gestuften Vorgänge bei oberflächlicher Nekrose einen klaren Einblick zu. Wenn dann bei der entzündlichen Nekrose diese Beanspruchung der Puffer die gleiche wäre, wie bei anderen, nicht mit Entzündungen einhergehenden O_2-Mangelzuständen, könnten sie nicht so sehr als Charakteristikum der Entzündung, sondern müßten eher als Folgen der all diesen Zuständen gemeinsamen acidotischen Tendenz angesehen werden. Bei den Schwierigkeiten direkter Reaktionsmessung im Gewebe hätten solche indirekten Symptome zum Nachweis einer acidotischen Tendenz große Bedeutung.

Unter den Gewebspuffern spielt Kalium als quantitativ stärkster Elektrolyt eine wichtige Rolle.

Über seine Beziehungen zur Entzündung und entzündlichen Nekrose hat Haebler (7) Untersuchungen angestellt. Er fand 200—100 mg% Kalium im zentralen Eiterherd, eine allgemeine Abnahme der Werte über 90—50 mg% in der sogenannten entzündlich infiltrierten Zone und 27—16 mg% in der Zone des „peripheren Ödems" bis zu 15—10 mg% zum Normalzustand.

Ein Vergleich mit der entzündlichen H-Hyperionie zeigt, daß die stärkste Acidose mit der höchsten K-Anreicherung zusammenfällt. Der Organismus sucht offenbar durch Bindung an Kalium und durch Ausscheidung in Form von Kaliumsalzen sich der sauren Stoffwechsel produkte zu entledigen.

Auch Haebler hat wahrscheinlich die gleiche Erklärung im Auge, wenn er schreibt, daß die Elektrolytverschiebung im Entzündungsgebiet „durch die Stärke der Entzündungsacidität erzwungen oder bei geringer lokaler Acidität durch hinzutretende Strömungsverlangsamung begünstigt wird".

Neben einer K-Anreicherung haben Schade und Mitarbeiter bei stärkster Entzündungsacidität eine Natriumzunahme gefunden. Das muß zunächst auffallen, weil K und Na bei vielen Lebensvorgängen sich antagonistisch verhalten [Dienst (8)]. Beim Furunkel, von dem die Untersuchungen der genannten Autoren ihren Ausgang nehmen, bestehen aber insofern besondere Verhältnisse, als mangels einer Verbindung mit der Außenwelt Eiter und Detritus nicht abgestoßen werden können, somit die Anreicherung von an Kalium gebundenen, sauren Stoffwechselprodukten im Eiter und Entzündungsgebiet ihre Erklärung findet. Bei unbehinderter Abfluß- und Auswaschungsmöglichkeit wäre mit größterVoraussicht eine K-Verarmung des der Hypoxie ausgelieferten Gewebes festzustellen. Schon das Kaliumgefälle, das im zentralen Eiterherd seinen Gipfelpunkt hat, läßt diesen Schluß zu. Dem biologischen Antagonismus K/Na gemäß müßte dann Na in dem an K verarmten Gewebe eine Anreicherung erfahren. Das entspricht wiederum den Feststellungen der genannten Autoren.

Aber auch diese Tatsache ließe eine Na-Anreicherung aus folgenden Vorgängen vermuten: In der Umgebung der Entzündung findet sich das kollaterale Ödem. In der Regel ist eine pathologische Wasseransammlung innerhalb eines Zellverbandes ohne Natriumanreicherung nicht denkbar. Denn erst das Natrium hält auf Grund seiner hydropigenen Eigenschaften die Flüssigkeit zurück. Das ist fast bei allen Ödemformen der Fall [Dienst (9)], kann daher auch mit allergrößter Wahrscheinlichkeit für das entzündliche Ödem angenommen werden.

Will man nun mit diesen Transmineralisationen und den mit ihnen zusammenhängenden Veränderungen des Wasserhaushalts bei der oberflächlichen Nekrose mehr sehen als lokale, nur für die Entzündung charakteristische Merkmale, dann müßten sie ebenso wie bei der Entzündung bei der hypoxischen Schädigung der Herzmuskulatur nachzuweisen sein. In diesem Falle verlöre die Entzündung als ursächlicher Faktor noch mehr an Boden und die hypoxydotische Gewebsacidose rückte in den Vordergrund.

Aus experimentellen Untersuchungen geht nun tatsächlich hervor, daß der Herzmuskel unter O_2-Mangel (z. B. bei Erstickung) an Kalium verarmt und mit Natrium sich anreichert [Kaunitz (10)].

Kaliumverarmung hat man weiter bei insuffizienten Herzen gefunden [Dennstedt und Rumpf (11), Harrison, Pilcher und Erving (12)]. Man hat außerdem nachgewiesen, daß die K-Verluste des Herzteiles, der stärker versagt als der andere, erheblicher sind, und daß der Herzmuskel nach Verlust eines Drittels seines K-Gehaltes zu schlagen aufhört [Krynska und Witanowsky (13)].

Auch in diesen Fällen kann man O_2-Mangel als Ursache der Transmineralisationen annehmen, wenn man von der bekannten Vorstellung ausgeht, daß infolge Herzmuskelhypertrophie und Dilatation der Versorgungsradius einer jeden Kapillare zunimmt und damit eine Erschwerung der O_2-Diffusion erfolgt. Offenbar bietet Kalium als Gewebspuffer Schutz gegen die Folgen eines O_2-Mangels, während der an K verarmte Herzmuskel gegen akute Steigerungen seines O_2-Bedarfs weniger gesichert ist und leichter versagt.

In Parallele zur Zellgewebsnekrose läßt sich ferner auch am Herzmuskel feststellen, daß zugleich mit den Transmineralisationen Änderungen seines Wassergehalts erfolgen.

Bei im Kollaps oder im Tierversuch bei orthostatischem Kollaps Verstorbenen ist ein interstitielles Ödem vorhanden [Meesen (14)], oft sogar noch, bevor die Herzmuskelnekrose zur Entwicklung kommt. Bei chronischer Herzmuskelinsuffizienz hat Eppinger (15) auf die zwischen den einzelnen Herzmuskelfasern befindliche seröse Flüssigkeit aufmerksam gemacht.

Aus diesen Tatsachen und Beobachtungen kann man folgern, daß bei der hypoxischen Herzmuskelschädigung und der entzündlichen Nekrose Vorgänge walten, die weitgehende Parallelen besitzen. Wenn auch somit bei der Herzmuskelnekrose im Gegensatz zur entzündlichen eine echte Acidose nicht nachweisbar ist, so dürften doch die erörterten Entstehungsgrundlagen und Kompensationsvorgänge das Bestehen einer acidotischen Tendenz nahelegen.

Nach diesen Überlegungen wollen wir uns nunmehr den Stoffwechselvorgängen im Muskel bei der Ermüdung zuwenden, denn die Beziehungen zwischen O_2-Mangel und Säurebasenhaushalt lassen sich noch einfacher als am Herzen an der peripheren Muskulatur übersehen.

Im übermüdeten Muskel kommt es infolge Sauerstoffmangels vornehmlich zu einer Störung des intermediären Kohlenhydratstoffwechsels und damit zu vermehrter Bildung von Milchsäure, also zu einer Verschiebung des Säurebasengleichgewichtes im Sinne einer acidotischen Tendenz. Überraschenderweise aber ist im Muskel nach Eppinger (16) nicht eine Acidose, sondern eine Alkalose zu konstatieren. Ursache dieser Alkalose soll das vermehrte Auftreten von Ammoniak sein, das der Körper offenbar zur Unschädlichmachung intermediär auftretender Säuren verwendet.

Unter dem Einfluß dieser acidotischen Tendenz setzen nun auch im übermüdeten Muskel Transmineralisationsvorgänge ein. Der übermüdete Muskel verliert Kalium, reichert sich ferner mit Natrium an und wird zugleich wasserreicher.

Schildbach (17) konnte auf meine Anregung diese durch Untersuchungen des Muskels von anderer Seite festgestellten Elektrolytumlage-

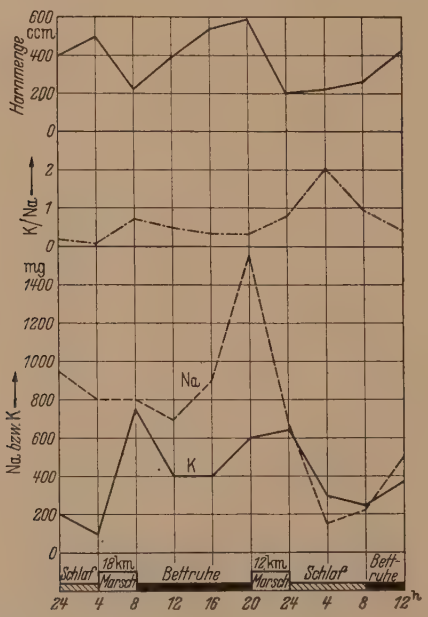


Abb. 1. Nach einem Marsch von 18 km am ersten Versuchstag und 12 km am zweiten Versuchstag steigt die K-Ausscheidung im Harn an, während die Na-Ausfuhr zurückgeht. In der nach dieser Anstrengung nun folgenden Ruhe und Schlafperiode sinkt die K-Ausscheidung wieder. Die Na-Ausscheidung, die träger ist, steigt 4 Stunden nach Beendigung der Arbeitsperiode an. Dementsprechend verhält sich der K : Na-Quotient.

rungen durch Harnanalysen bei Ruhe und Körperarbeit in seiner Dissertation bestätigen.

Die Harnmenge korrespondiert mit der Na-Ausscheidung, d. h. der Na-Retention entspricht die geringere Harnmenge. Mit diesen Ergebnissen stimmt die Feststellung, daß der übermüdete Muskel wasserreicher ist [Durig (18)], gut überein.

Ähnlich wie bei der entzündlichen Nekrose und der Herzmuskelschädigung sehen wir also auch bei der Muskelübermüdung Verschiebungen des Säurebasengleichgewichts.

Bei der schweren Entzündung wird eine Acidose festgestellt, bei der Übermüdung des Muskels dagegen eine Alkalose, doch sind beide Vorgänge nicht etwa der Ausdruck gegensätzlichen Geschehens, wie man bei oberflächlicher Betrachtung vermuten sollte, sondern Manifestationen der acidotischen Tendenz. Der gleiche Stoffwechselreiz stößt bei der in relativ kurzer Zeit sich entwickelnden Ermüdung offenbar noch auf genügende Reserven, die reaktiv eine Alkalose zu erzeugen vermögen, während bei der, über einen längeren Zeitraum sich auswirkenden Nekrose die Puffer erschöpft sind, und deshalb sich die Acidose ungehindert entfalten kann.

Als weiteren Symptomen begegnen wir ferner sowohl bei der Ermüdung, wie auch bei der entzündlichen Nekrose und Herzmuskelschädigung Transmineralisationen im Sinne von Kaliumverlusten und Natriumanreicherungen verbunden mit Wasserretention.

Als letztes Symptom der acidotischen Tendenz hatten wir schließlich eine gesteigerte Ammoniakbildung angetroffen, mit der wir uns später wieder befassen werden.

Man kann mit solchen Überlegungen noch einen Schritt weiter gehen und prüfen, ob nicht auch bei der Ermüdung, wie sie sich im Ablauf des 24-Stundenrhythmus in Form des Schlafes einstellt, ähnliche Gesetzmäßigkeiten sich abspielen.

Norn (19) hat wohl als erster nachgewiesen — und mein Mitarbeiter Schildbach hat das in seinen Versuchen bestätigt und weiter geklärt —, daß der Körper bei Tage mehr Kalium und nachts mehr Natrium durch den Harn ausscheidet. Nonnenbruch (20) ferner hat festgestellt, daß das Körpergewicht des Menschen abends oft höher ist als morgens und Menzel bei Kroetz (21) hat gefunden, daß während der Nacht ein Einströmen von Gewebsflüssigkeit aus dem Blute erfolgt (zit. n. Volhard (22)]. Sollten nicht auch diese Korrelationen zwischen Kalium und Wasserbewegung einerseits und den bereits diskutierten Zusammenhängen zwischen Wasserhaushalt und Natrium andererseits Ausdruck einer acidotischen Tendenz des Gesamtstoffwechsels im Laufe des Tag-Nacht-Rhythmus darstellen?

Daß dem so ist, konnten wir entgegen älteren Auffassungen nachweisen. Wir fanden [Dienst und Winter (23)], daß sich während der Nacht eine alkalotische und bei Tage eine acidotische Tendenz geltend macht, daß beim Einschlafen die Alkalireserve im Blute mehr zur sauren Seite, beim Erwachen dagegen mehr zur alkalischen neigt, daß ferner der während

der Nacht produzierte und morgens ausgeschiedene Urin stark sauer reagiert.

Es wäre nun weiter interessant, wie wir das auch bei unseren Untersuchungen über den Schlaf getan haben, Feststellungen darüber anzustellen, wie sich die Blutzuckerbewegungen bei der Ermüdung, der Erschöpfung der Skelettmuskulatur und beim Versagen des Herzens — Gremels (24) hat bei Herzinsuffizienz einige Anhaltspunkte dazu geliefert — im Vergleich zu den Schwankungen des Säurebasenhaushaltes verhalten, um zu prüfen, wieweit auch der Blutzuckerverlauf in den Symptomenkomplex der acidotischen Tendenz im Gesamtstoffwechsel eingereiht werden kann. Schon die sogenannte „Erstickungshyperglykämie" beweist, daß zwischen O_2-Mangel und Blutzuckeranstieg enge Wechselwirkungen bestehen. Allein der Blutzucker wird von zu vielen Einflüssen beeindruckt, der Nahrungsaufnahme sowohl wie vom Hunger, so daß man sich ohne die Schaffung entsprechender Vorbedingungen einen praktischen Vorteil wohl kaum versprechen kann.

Um aber unsere Überlegungen zum Tag-Nachtrhythmus zu Ende zu führen, müssen die Zusammenhänge der Schwankungen im Säurebasenhaushalt zum Sauerstoffverbrauch des Gewebes noch kurz diskutiert werden.

Während des Tages ist zwar im allgemeinen der O_2-Verbrauch höher als während der Nacht. Wenn aber trotzdem eine Verschiebung der Stoffwechsellage zur acidotischen Seite erfolgt, so deutet dies zusammen mit den Kaliumverlusten dennoch auf eine mangelhafte Durchoxydation der Stoffwechselschlacken im Gewebe hin. Während der Nacht hingegen kann trotz offenbar geringen O_2-Verbrauchs eine bessere Elimination retinierter Schlacken und eine Umstimmung zum Alkalischen erfolgen, dies um so mehr, als die Bildung neuer saurer Intermediärprodukte geringer ist.

Es bestehen also offensichtliche Zusammenhänge zwischen Schwankungen des Säurebasenhaushalts und O_2-Verbrauch im 24-Stundenrhythmus, und man kann aus diesem Stoffwechselgeschehen und seinen Folgen, den Änderungen der Isotonie und Isoionie, die Bereitschaft zum Eintreten des Schlafens und Erwachens sehr wohl verstehen, ohne Änderungen des elektrostatischen Gleichgewichts im Schlafe [R. L. Müller (25)], die wir als Vorgänge sekundärer Art auffassen, zur Erklärung zu benötigen.

All diese Vorgänge verlaufen natürlich nicht ohne die Mitwirkung des Sympathicus und Parasympathicus. Der Tagesablauf steht unter der Herrschaft des Sympathicus, dessen Tonus mit der acidotischen Stoffwechsellage synergisch verknüpft ist. Im Schlaf dagegen überwiegt der Vagotonus, der selbst wieder den Stoffwechsel im alkalischen Sinne beeinflußt, wie auch umgekehrt die acidotische Tendenz den Vagotonus fördert. Man kann daher mit Sicherheit erwarten, daß sich das Mithineinspielen vegetativer Einflüsse auch bei den Stoffwechselvorgängen der hypoxydotischen Herzmuskelnekrose und der Ermüdung nachweisen lassen wird, ebenso wie beim Ödem, dessen Entstehen uns im folgenden

in seiner Abhängigkeit von O_2-Mangel und Säurebasenhaushalt beschäftigen soll.

Ödeme sehen wir bei Herzkranken dann auftreten, wenn er schwer dekompensiert ist, d. h. wenn die O_2-Versorgung der Gewebe nicht mehr gewährleistet ist. Störung der Oxydation bedeutet auch hier, daß der intermediäre Stoffwechsel auf Zwischenprodukten stecken bleibt und sauer reagierende Produkte auftreten. Bewiesen wird dies durch den Anstieg der Milchsäurewerte im Blut und Harn bei Kreislaufdekompensation. Es macht also keine Schwierigkeiten, einen Zusammenhang zwischen Kreislaufdekompensation und Störungen des Säurebasengleichgewichts anzunehmen.

Ob es nun unter solchen Umständen im Gewebe zu einer echten Acidose mit Verschiebungen des p_H-Wertes oder der Alkalireserve kommt, ist unseres Wissens nicht untersucht, ist schließlich aber auch unwesentlich, weil das Nichtbestehen einer dekompensierten Acidose, wie erörtert, nichts gegen das Vorliegen einer acidotischen Tendenz aussagt.

Auch im Blute liegt bei Kreislaufdekompensation gewöhnlich eine Acidose nicht offen vor. Das Blut-p_H ist bei Kreislaufdekompensation — außer in extremen Fällen — bekanntlich normal, und auch die Alkalireserve schwankt unserer Erfahrung nach bei mehr oder weniger schwer dekompensierten Herzkranken scheinbar völlig ungesetzmäßig zwischen normalen Grenzen. Trotzdem sind auch im Blute, wie wir später sehen werden, Kennzeichen nachweisbar, die auf eine Störung des Säurebasengleichgewichts hindeuten, woraus natürlich wiederum nicht ohne weiteres auf eine Gewebsacidose geschlossen werden darf.

Was aber dennoch die Existenz einer Störung der Säurebasenregulation beim Ödem nahelegt, ist die Möglichkeit, wiederum die gleichen Stoffwechselregulationen festzustellen, wie wir ihnen auch bei den seither erörterten Zuständen einer durch Hypoxydose bedingten acidotischen Tendenz im Gewebe begegnet sind.

Die im Gewebe retinierten Säuren werden an Kalium gebunden und als Kaliumsalze durch die Nieren eliminiert, wie ich als erster durch Harnanalysen bei Herzkranken nachweisen konnte [Dienst (26)]. Dabei dringt Natrium aus den Körpersäften zum Ausgleich der Gesamtkonzentration in die Gewebe ein, womit eine Störung der osmotischen Konzentration verbunden ist. Somit kann man mit voller Berechtigung sagen, daß das Ödem einen, wenn auch pathologischen Mechanismus zur Aufrechterhaltung des Säurebasengleichgewichts im Gewebe darstellt.

Dieser 1938 (Klin. Wschr. 1938, S. 124) bereits von mir geäußerten Auffassung über die Ödementstehung hat Druckrey (27) sich in seinem Bad Nauheimer Referat 1941 weitgehend angeschlossen. Druckrey sieht die Ursache der Ödembildung vorwiegend in einer Störung der Isoionie, während es mir seinerzeit darauf ankam, den Zusammenhang zwischen Ödementstehung, Störungen der Isohydrie, Isotonie und Isoionie darzulegen.

Nicht jedes Ödem ist freilich primär mit O_2-Mangel in Verbindung zu bringen. Neben dem cardialen Ödem ist diese Entstehungsursache wohl nur noch für das Ödem bei hochgradiger Lungeninsuffizienz in Betracht zu ziehen. Beim Ödem Nieren- oder Leberkranker und der Diabetiker sind andere Störungen für die ihnen zugrunde liegende acidotische Tendenz verantwortlich zu machen.

Säuren im Gewebe können außer durch Säurebindung an Alkali noch durch Neutralisation mittels Ammoniak unschädlich gemacht und durch die Niere beseitigt werden. Wir kommen somit zu einem weiteren Symptom, dessen sich der Organismus bedient, um einer drohenden Acidose Herr zu werden, und das als Ausdruck einer acidotischen Tendenz im Gewebe aufgefaßt werden kann. Zwar steigt auch nach exogener Säurezufuhr die Ammoniakzahl im Harn. Wenn diese Erhöhung aber ohne äußere Veranlassung einsetzt, muß sie als Symptom endogener Säurebildung gewertet werden. In zahlreichen Fällen haben wir bei dekompensierten Herzkranken im Stadium der Ödemzunahme hohe Ammoniakzahlen im Harn gefunden [Dienst (28)], die nach Beseitigung der Dekompensation zur Norm zurückgingen. Hier sei noch an die Tatsache erinnert, daß auch der ermüdete Muskel, um seine unter O_2-Mangel gebildeten Stoffwechselprodukte unschädlich zu machen, sich neben den erwähnten Mineralumlagerungen der gesteigerten Ammoniakbildung bedient (Eppinger).

NH_3 entsteht aus den Aminosäuren des Eiweißes unter Steigerung des O_2-Verbrauches. Bei dekompensierten Herzkranken ist bekanntlich in hohem Prozentsatz der Grundumsatz gesteigert. Aller Wahrscheinlichkeit nach kann auch dieses Symptom, ebenso wie der Anstieg der Ammoniakzahl im Harn als Maßnahme des Organismus zur Bekämpfung der acidotischen Tendenz und damit als Ausdruck dieser selbst gedeutet werden.

Es fragt sich allerdings, ob die aufgezeichneten Phänomene grundsätzlich als Äußerung einer acidotischen Tendenz aufgefaßt werden können.

Bekanntlich sieht z. B. Eppinger Transmineralisationen zwischen Kalium- und Natriumbestand mit Änderungen des Wasserhaushalts als Folgen einer serösen Entzündung an. Doch auch die seröse Entzündung geht mit einer Störung der Sauerstoffdiffusion zwischen Gewebe und Kapillaren, also einer Hypoxydose einher, die wiederum, wie man in Analogie zu den vorausgehend aufgezeigten Parallelen wohl annehmen darf, eine acidotische Tendenz im Stoffwechsel auslösen könnte. Bei solcher Fiktion wäre die, durch hypothetische Gifte hervorgerufene Kapillarschädigung, welche die seröse Entzündung einleitet, der primäre und die durch Hypoxydose veranlaßte acidotische Tendenz im Gewebe nur ein intermediärer Vorgang. Man könnte sich ebensogut vorstellen, daß mitunter auch die durch Hypoxydose erzeugte acidotische Tendenz im Gewebe die Vorgänge auslöst, die durch Eppingers Untersuchungen unter dem Symptomenkomplex der serösen Entzündung berühmt geworden sind.

Diese ebenso interessante wie schwierige Frage, die abseits unseres eigentlichen Themas liegt, sollte hier nur kurz gestreift werden. Uns kam

es vor allen Dingen darauf an, nachzuweisen, daß das, was früher Gewebsacidose genannt wurde, keine Utopie ist, sondern als „durch Hypoxydose ausgelöste acidotische Tendenz im Gewebe" einen Begriff darstellt, der sich durch mannigfache Symptome konkretisieren und stützen läßt.

Zusammenfassung.

Hypoxämie wird in der Regel als Grundlage eines O_2-Mangels im Gewebe angesehen, wobei man außer acht läßt, daß auch die Steigerung des Gewebsstoffwechsels über die Leistungsfähigkeit des Blutes hinaus die unzulängliche O_2-Versorgung im Gewebe auszulösen vermag. Es kann erwartet werden, daß auch die Zelle stoffwechselregulatorische Maßnahmen trifft, um die Folgen eines O_2-Mangels im Gewebe abzuwehren. Diese müßten diagnostisch hohes Interesse erheischen.

Allgemein ist zu sagen, daß O_2-Mangel eine Änderung der Oxydationsvorgänge bedingt, wobei saure Stoffwechselprodukte auftreten. Die Gewebshypoxydose konnte somit zur Ursache einer Gewebsacidose werden.

Durch direkte Messung ist die Gewebsacidose aber meist nicht nachzuweisen. Erst recht kann nicht aus einer Blutacidose auf die Existenz einer Gewebsacidose geschlossen werden. Durch Kompensation einer Acidose kann u. U. sogar eine alkalotische Reaktion resultieren. Folgen eines O_2-Mangels im Gewebe äußern sich daher nicht immer in Form einer echten Acidose. Zweckmäßiger erscheint es unter diesen Umständen von einer acidotischen Tendenz zu sprechen. Diese muß an den Stoffwechselreaktionen zu erkennen sein, die sie auslöst.

Am Beispiel der „hypoxämischen" Herzmuskelnekrose, der entzündlichen Nekrose, der Muskelermüdung, des Tag-Nachtrhythmus und des peripheren Ödems wird aufgezeigt, daß als Folgen eines O_2-Mangels im Gewebe jeweils in gleicher Weise Transmineralisationen zwischen K und Na, Störungen des Wasserbestandes, Veränderungen des Säurebasengleichgewichts und vermehrte NH_3-Bildung zu beobachten sind.

Diese sich trotz verschiedenartigster Zustände jedesmal analogen Veränderungen könnten zur Konkretisierung einer durch Hypoxydose ausgelösten acidotischen Tendenz im Gewebe dienen. Ein seither umstrittener und nicht faßbarer Begriff würde damit, in etwas modifizierter Form, für die allgemeine Pathologie diskutierbar.

Literatur.

1) Dienst: Dtsch. med. Wschr. **1937**, S. 471. — 2) Büchner: Die Coronarinsuffizienz. Steinkopf, 1939. — 3) Schumann: Luft.med. 4, 204 (1939/40). — 4) Aschoff: Pathol. Anatomie 1936, I, 471. — 5) Schade: Physikalische Chemie. Steinkopf, 1923. — 6) Schade, Claussen, Haebler, Hoff, Mochizucki u. Birner: Z. exper. Med. **49**, 406 (1928). — 7) Haebler: Physikchemische Medizin.

Leipzig 1939. — 8) Dienst: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **182**, 567 (1936). — 9) Dienst: Klin. Wschr. 1938, S. 124. — 10) Kaunitz: Z. exper. Med. **100**, 121 (1937). — 11) Dennstadt u. Rumpf: Z. Klin. Med. **58**, 84 (1906). — 12) Harrison, Pilcher u. Erving, J. clin. Invest. (Am.) **8**, 325 (1930). — 13) Krynska u. Witanowsky: Kongr.Zbl. inn. Med. **69**, 137 (1933). — 14) Meesen: Beitr. path. Anat. **99**, 341 (1937). — 15) Eppiger: Erg. inn. Med. **51**, 208 (1936). — 16) Eppinger: Z. Klin. Med. **133**, 1 (1938). — 17) Schildbach: Diss. Köln 1939. — 18) Durig: Handb. Arbeitsphys. Leipzig 1937. — 19) Norn: Skand. Arch. Physiol. (D.) **55**, 184 (1929). — 20) Nonnenbruch, zit. bei Keller: Z. inn. Med. 1936, S. 412. — 21) Menzel, zit. n. Volhard. — 22) Volhard: Verh. dtsch. Ges. Kreisl.forsch. **12**, 327 (1939). — 23) Dienst u. Winter: Z. Klin. Med. **133**, 91 (1937). — 24) Gremels: Verh. dtsch. Ges. Kreisl.forsch. **12**, 310 (1939). — 25) R. L. Müller: Über den Schlaf. München 1940. — 26) Dienst: Klin. Wschr. 1938, S. 124. — 27) Druckrey: Verh. dtsch. Ges. Kreisl.forsch. **14**, 177 (1941). — 28) Dienst: Med. Klin. 1939, Nr. 50.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Westfälischen Wilhelms-Universität, Münster. (Direktor: Prof. L. Lendle.)

Ein Beitrag zum Wirkungsmechanismus des Atropins.

Von

H. Genuit und A. Junker.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 11. März 1943.)

Die heutigen Anschauungen über die Wirkungsweise des Atropins sind insofern einheitlich, als angenommen wird, daß durch diesen Stoff die Wirkung parasympathischer Erregung gehemmt wird. Diese Hemmung beruht nicht darauf, daß etwa die Freisetzung des parasympathischen Überträgerstoffes, des Acetylcholins, verhindert wird[1, 2], sondern darauf, daß das auch unter Atropin an den Nervenendigungen entstehende Acetylcholin (A. Ch.) seine Wirkung auf die Zelle nicht mehr ausüben kann.

Für diesen Befund ist von Straub[3] eine relativ einfach erscheinende Deutung gegeben und auch experimentell belegt worden. Straub fand nämlich, daß am isolierten Herzen von Aplysien und Torpedo durch Atropin das Eindringen von künstlichem Muskarin (= Nitrosocholin), das eine dem A. Ch. analoge Wirkung hat, in die Zellen verhindert bzw. sehr stark verzögert wird. Nun ist das Muskarin ebenso wie das A. Ch. nach Straub ein sog. Potentialstoff, der dann wirkt, wenn er in die Zelle eindringt, und dessen Wirkungsstärke von der Zahl der pro Zeiteinheit in die Zelle eindringenden Moleküle abhängt. Diese Befunde über die Abdichtung der Zellmembranen durch Atropin wurden von Straub dadurch direkt nachgewiesen, daß er den Muskaringehalt des Herzens mit und ohne vorherige Atropinbehandlung bestimmte.

Die Potentialstofftheorie wurde in der Folgezeit, insbesondere von Gremels[4] und Mitarbeitern, weiter ausgebaut und besonders der Potentialstoffcharakter von A. Ch. und Adrenalin erwiesen. Da bei den Potentialstoffen naturgemäß die Durchlässigkeit der Zellmembran von großer Bedeutung ist, wurden Versuche, den Zustand der Zellmembran zu ändern und damit Veränderungen der Potentialstoffwirkung zu erzielen, oft unternommen. (Gremels, Erg. Physiol. **42**, S. 88). Dabei wurden ganz bestimmte Vorstellungen über die Wirkung von Durchlässigkeitsänderungen der Membran entwickelt. Geringe Abdichtungen sollen die Wirkung der Potentialstoffe, z. B. des A. Ch., verstärken, sehr hochgradige die Wirkung

[1] Loewi, O., u. E. Navratil: Pflügers Arch. **206**, 123 (1924). — [2] Brücke, F. Th. v.: J. Physiol. (Brit.) **90**, 81 (1937). — [3] Straub, W., Pflügers Arch. **119**, 127 (1907). — [4] Gremels, H.: Erg. Physiol. usw. **42**, 88 (1939).

aufheben. So wurde angenommen, daß das Atropin in der üblichen Dosierung, bei der eine Aufhebung des A. Ch.-Effektes erzielt wird, die Zellmembran sehr hochgradig abdichte. Folgerichtig wurde gefunden, daß sehr kleine Konzentrationen von Atropin, die vermutlich eine geringere Membranabdichtung hervorrufen, eine Verstärkung der A. Ch.-Wirkung bedingen.

Außer in den Versuchen von Straub sind alle diese Beweise für die Membranwirkung des Atropins indirekt geführt worden. Sie wurden geschlossen aus der Wirkungsänderung des A. Ch., die dadurch hervorgerufen wurde. Bei der Bedeutung dieses Antagonismus schien es uns nun wertvoll zu sein, die von Straub für das Muskarin am Kaltblüter gewonnenen Ergebnisse auch für das A. Ch. am Warmblüter zu untersuchen. Die technischen Vorbedingungen waren durch eine von Genuit[5] bereits früher zu anderen Versuchen benutzte Methode gegeben. Die vorliegenden Untersuchungen gingen von folgenden früher schon angedeuteten Überlegungen aus:

Wenn man bei einem isolierten Kaninchenherzen die Coronarien in geschlossenem Kreislauf durchströmt, so wird A. Ch., das man in die Durchströmungsflüssigkeit bringt, mit einer bestimmten Geschwindigkeit zerstört. Diese Zerstörung ist bedingt durch die Wirksamkeit der Gewebsesterase. (Die Blutesterase spielt in diesen Versuchen keine Rolle, da die Coronarien mit Ringer-Locke-Lösung durchströmt werden.) Wie Genuit und Labenz[6] gezeigt haben, kann die Zerstörungsgeschwindigkeit des A. Ch. in dieser Anordnung vermindert werden, wenn man der Durchströmungsflüssigkeit Stoffe zusetzt, welche die Esterase spezifisch hemmen.

Aber auch ohne direkte Beeinflussung des spaltenden Ferments müßte bei dem Herzpräparat mit geschlossenem Coronarkreislauf eine Verringerung der Zerstörungsgeschwindigkeit zu erreichen sein, und zwar dadurch, daß der Durchtritt des A. Ch. durch die Zellmembran erschwert wird. Die Esterase befindet sich nach der bisherigen Auffassung innerhalb der Zellen, das A. Ch. zunächst nur in der Außenflüssigkeit. Damit überhaupt eine Verseifung des A. Ch. zustande kommen kann, muß dieses in die Zelle eindringen. Daraus ist zu entnehmen, daß die Geschwindigkeit, mit der das A. Ch. in die Zellen hineindiffundiert, die Zerstörungsgeschwindigkeit beeinflussen wird.

Da das Atropin nach den oben genannten Anschauungen die Diffusion des A. Ch. in die Zellen sehr stark behindern soll, war zu erwarten, daß das Atropin in unserer Anordnung die Verseifungsgeschwindigkeit von zugesetztem A. Ch. herabsetzt, also scheinbar die Esterase hemmt. Daß es sich dabei nur um eine scheinbare Hemmung des Ferments handelt, könnte dadurch bewiesen werden, daß diese Hemmung bei der Einwirkung von

---

[5] Genuit, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **198**, 561 (1941). — [6] Genuit, H., u. K. Labenz: Ebenda **198**, 369 (1941).

Herzmuskelbrei, bei dem die Membranen zerstört sind, auf A. Ch.-Lösungen nicht auftritt.

Mit unserer Versuchsanordnung bestand weiterhin die Möglichkeit einer Stellungnahme zu der Hypothese, daß die antagonistische Wirkung des Atropins gegen A. Ch. auf der Abdichtung der Zellmembran für A. Ch. beruht. Es war möglich, Stoffe zu suchen, die ebenso wie das Atropin die Diffusion des A. Ch. behinderten, Stoffe also, die eine scheinbare — keine wirkliche — Hemmung der Cholinesterase bewirkten, und dann zu prüfen, ob die Stoffe ebenso wie das Atropin die negativ ino- und chronotrope Wirkung des A. Ch. aufheben.

Methodik.

1. Versuche am intakten Herzen.

Die Versuche wurden in der Zeit von August bis November 1941 an Kaninchen verschiedener Rassen mit einem Gewicht von 2—3 kg durchgeführt. Die isolierten Herzen hatten am Ende des Versuchs nach Abpressen der Flüssigkeit mit Filtrierpapier ein Gewicht von 5—10 g. Die methodischen Einzelheiten bezüglich Apparatur und Herstellung des Präparats wurden von Genuit[5] früher ausführlich beschrieben.

In den Untersuchungen von Genuit und Labenz[6] wurde so verfahren, daß das A. Ch. dem System Herz-Durchströmungsflüssigkeit zugesetzt wurde und nach 10 Minuten der noch vorhandene Rest von A. Ch. durch Auswertung am Blutegelpräparat* bestimmt wurde. Die die Esterase hemmenden Stoffe wurden 10 Minuten vor Zugabe des A. Ch. auf das Herz einwirken gelassen. Diese letztere Anordnung wurde auch für das Atropin beibehalten. Hingegen war es nicht zweckmäßig, den A. Ch.-Rest nach 10 Minuten zu bestimmen; dabei zeigten sich nämlich keine Unterschiede gegenüber Kontrollversuchen ohne Atropin.

Dieses Verhalten lag u. E. daran, daß die Membrandichtung durch Atropin nicht so stark war, daß sie in dieser Zeitdauer die A. Ch.-Verseifung wesentlich behindern konnte. Wie in den Versuchen von Genuit und Labenz[6] festgestellt wurde, verläuft die Zerstörung des A. Ch. bei unserer Anordnung und Dosierung in Form einer Exponentialfunktion, d. h. zuerst sehr schnell, dann langsamer. Das letzte Stück der Kurve hat nur noch eine geringe Neigung gegen die Zeitachse.

Daraus war zu folgern, daß zu früheren Zeitpunkten etwa 2 oder 3 Minuten nach Zusatz des A. Ch. Unterschiede in der Zerstörungsgeschwindigkeit stärker hervortreten müßten. Entsprechend bestimmten wir den A. Ch.-Rest in den vorliegenden Versuchen nach 2 Minuten, später durchweg nach 5 Minuten.

---

* Bezüglich Auswertung des A. Ch. am Blutegel und Berechnung des A. Ch.-Restes vgl. Genuit u. Labenz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **198**, 372 (1941).

Die Diffusionsgeschwindigkeit des A. Ch. in die Zelle hinein ist außer von der Beschaffenheit der Membran abhängig von der Anfangskonzentration in der Durchströmungsflüssigkeit. Da zu erwarten war, daß bei hoher Diffusionsgeschwindigkeit Widerstände in der Membran deutlicher in Erscheinung treten würden, wählten wir die Anfangskonzentration für A. Ch. in der Durchströmungsflüssigkeit möglichst hoch. Dies konnte am einfachsten dadurch geschehen, daß eine größere A. Ch.-Dosis zugesetzt wurde. Es zeigte sich jedoch, daß diese Maßnahme unzweckmäßig war. Gibt man Dosen von mehr als 10γ mehrfach hintereinander in unser Präparat, so läßt die Wirkung der Gewebsesterase nach, d. h. der A. Ch.-Rest nach 5 Minuten wird mit zunehmender Versuchszahl größer. Dies war für unsere Versuche unerwünscht, weil damit die Vergleichsmöglichkeit bei verschiedenen Versuchen am gleichen Präparat genommen war. Wir gingen daher so vor, daß wir bei A. Ch.-Dosen von $5-10\gamma$ das Volumen der Durchströmungsflüssigkeit verringerten.

Diese Verkleinerung des Systemvolumens bringt es mit sich, daß bei gleichbleibendem Coronarminutenvolumen die Flüssigkeit in der Zeiteinheit öfter durch das Herz gepumpt wird — oder anders ausgedrückt —, sich ein größerer Prozentsatz der Durchströmungsflüssigkeit jeweils im Herzen befindet. Es war zu erwarten, daß auch dadurch Abschwächungen der Esterasewirkung durch Zellmembranabdichtung deutlicher in Erscheinung treten würden.

Technisch wurde dies so ausgeführt, daß der Apparat zunächst mit 20 ccm gefüllt wurde. Die Atropindosen wurden zu diesen 20 ccm zugesetzt und 10 Minuten lang einwirken gelassen. Vor dem Zusetzen des A. Ch. wurde so viel Ringerlösung aus dem Apparat in einen kleinen Meßzylinder abgelassen, daß die Durchströmung noch gut funktionierte. Je nach der Größe des Herzens betrug die verbleibende Durchströmungsflüssigkeit 10—13 ccm. Dieses Volumen wurde während des Versuchs konstant gehalten.

Die Wirkung des A. Ch. auf die Herzfrequenz wurde mit Hilfe eines Ordinatenschreibers und eines besonderen Kontakthebels* aufgezeichnet.

2. Versuche mit Herzmuskelbrei.

Um zu beweisen, daß die unter dem Einfluß von Atropin und anderen die Zellmembran dichtenden Stoffen auftretende Hemmung der Esterase nur bei Vorhandensein der Zellmembran auftritt, wurden analoge Versuche mit Herzmuskelbrei angestellt.

Nach Abschluß eines jeden Durchströmungsversuchs wurde das Herz zwischen Fließpapier von der in den Herzhöhlen vorhandenen Flüssigkeit befreit, gewogen und aus zeitlichen Gründen über Nacht im Eisschrank

* Vgl. Genuit u. Ruppert: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **200**, 688 (1943).

aufbewahrt. Das Herz wurde am nächsten Morgen mit 5 g Quarzsand im Porzellanmörser zerrieben, danach wurde so viel Ringerlösung hinzugegeben ($p_H = 7{,}4$), daß das Gesamtgewicht = Herzgewicht + Durchströmungsflüssigkeit + 5 g (Sand) war. Der Brei wurde umgerührt und dann mit 3—4000 Umdr./Min. 15 Minuten lang zentrifugiert*.

Von dem Zentrifugat wurde die überstehende Flüssigkeit abgegossen und in einzelne Proben geteilt, die jeweils $^1/_{10}$ des obigen Gesamtgewichts ohne Sand betrugen. Die Proben wurden in einem 50-ccm-Rundkolben bei 37° geschüttelt. Die Stoffe, deren Wirksamkeit auf die Esterase untersucht werden sollte, wurden in 0,1 ccm Flüssigkeit gelöst zugegeben. Entsprechend den Durchströmungsversuchen wurde nach 10 Minuten das A. Ch. ebenfalls in 0,1 ccm gelöst zugegeben. (Die Abmessung erfolgte mit Hilfe einer Präzidenzspritze der Firma F. Kühn, Frankfurt.)

Die Unterbrechung der Esterasespaltung erfolgte durch Zugabe von 1 ccm 20%iger Trichloressigsäure. Die Proben wurden filtriert unter Nachspülen mit etwa 10%iger Trichloressigsäure. Die Trichloressigsäure wurde durch Ätherextraktion entfernt. Die Ätherextraktion erfolgte abweichend von den Angaben von Kull[7], dessen Anordnung wir sonst folgten, nicht mit Hilfe des Schütteltrichters, sondern im Soxhlet-Apparat. Kontrollversuche mit reinen A. Ch.-Lösungen hatten ergeben, daß bei Ausätherung im Schütteltrichter das A. Ch. meist nicht vollkommen wiedergewonnen werden konnte. Bei Verwendung des Soxhlet-Apparats waren die Ergebnisse gut. Die Extraktion dauerte 1—$1^1/_2$ Stunden. Die Proben reagierten danach neutral. Es wurde jedesmal frischer Äther eingefüllt. Mit n/10 HCl wurden die Proben dann auf p_H 4,0 gebracht (Universalindikator, Merck), im Vakuum bei weniger als 40° C eingedampft, der Rückstand mit 5 ccm 96%igem Alkohol aufgenommen, auf p_H 4,0 angesäuert und erneut im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde in 4,0 ccm Kaltblüterringer gelöst und am Blutegel ausgewertet.

Bei den ersten Versuchen wurde die Umfällung mit Alkohol weggelassen, dabei wurde eine Beobachtung gemacht, die hier kurz mitgeteilt sei:

Wird der Rückstand nach der Ätherextraktion statt in Alkohol gleich in 4,0 ccm aqua dest. gelöst und am Blutegel ausgewertet, so sind die aus der Blutegelreaktion errechneten A. Ch.-Werte höher (bis 100%) als die der Ausgangslösungen. Nahm man eine 5—10fach größere A. Ch.-Menge, so daß nach der Aufarbeitung der in 4 ccm gelöste Rückstand 5—10fach verdünnt werden mußte, so ergab die Auswertung am Blutegel richtige Werte. Behandelt man eine am Blutegel unwirksame Lösung von Cholin

* Plattner u. Hintner geben an, daß sie den Organextrakt vor dem Zentrifugieren 2—3 Stunden stehenlassen. In unseren Versuchen fanden wir zwischen sofort und nach 2 Stunden zentrifugiertem Organextrakt keinen Wirkungsunterschied.

[7] Kull, J.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 447 (1939).

(z. B. 1 : 100 Millionen) in der gleichen Weise, so zeigt diese Lösung ebenfalls eine Wirkung am Blutegel. Daraus könnte man den Schluß ziehen, daß sich vielleicht bei der Einwirkung von Trichloressigsäure auf Cholin bzw. A. Ch. zum Teil ein Trichloracetylcholin bildet, das am Blutegel noch wirksamer sein müßte als A. Ch. Aus der Beobachtung, daß bei 10facher Verdünnung wieder die richtigen A. Ch.-Werte gefunden werden, müßte auf Besonderheiten des Trichloracetylcholins hinsichtlich seiner Dosiswirkungskurve am Blutegel geschlossen werden.

Der Musculus rectus abdominis des Frosches zeigte nicht das gleiche Verhalten wie der Blutegel. Die mit diesem Testobjekt erhaltenen A. Ch.-Werte hatten die richtige Größenordnung. Der Froschrectus wurde deshalb in den ersten Versuchsreihen von uns benutzt. Er hat aber den Nachteil, daß er wesentlich unempfindlicher ist gegen A. Ch. als der Blutegelrückenmuskel. Es waren dabei entsprechend höhere A. Ch.-Dosen nötig, die aus oben erörterten Gründen (vgl. S. 100) unerwünscht waren. Außerdem wird der Froschrectus durch hohe Atropinkonzentrationen unempfindlich gegen A. Ch.

Es ist als sicher anzunehmen, daß der Zusatz von Trichloressigsäure die Fermentreaktion momentan unterbricht. Ein Nachteil dieser Methode ist die zeitraubende nachfolgende Aufarbeitung. Wir versuchten deshalb, die A. Ch.-Spaltung durch die Esterase des Herzmuskelextrakts auf andere Weise zu unterbrechen.

Als erstes versuchten wir Prostigmin, das schon in sehr geringen Konzentrationen (1 : 1 Million) bei Durchströmungsversuchen am Herzen die Esterase völlig gehemmt hatte (vgl. Genuit und Labenz). Bei den Versuchen mit Herzmuskelextrakt setzten wir so viel Prostigmin zu, daß eine Konzentration von 1 : 1000000 bzw. 1 : 140000 erreicht wurde. Vergleiche zwischen beiden Arten der Unterbrechung zeigten, daß die Werte mit Prostigmin immer niedriger waren als die mit Trichloressigsäure. Es muß daraus gefolgert werden, daß bei Zusatz von Prostigmin erst eine gewisse Zeit vergeht, bis die Hemmung vollständig ist. (Ein solcher Zeitfaktor wurde für das Physostigmin von Gaddum[8] beschrieben.) Daß die Hemmung vollständig war, ging daraus hervor, daß die gleichen Proben sofort und nach 2 Stunden getestet gleiche Werte gaben.

Zweitens versuchten wir auf Anregung von Herrn Doz. Dr. Haarmann die Unterbrechung der A. Ch.-Spaltung durch gesättigte $ZnSO_4$-Lösung, die eine sofortige Eiweißfällung und damit eine Fermenthemmung bewirkt. Der Überschuß an $ZnSO_4$ wurde mit heißgesättigtem $Ba(OH)_2$ gegen Phenolphthalein neutralisiert. Das ausfallende $BaSO_4$ und $Zn(OH)_2$ ließ sich gut abfiltrieren, die Lösungen waren wasserklar. Leider zeigten schon die Leerproben mit Ringerlösung starke Wirkungen am Blutegel, die vermutlich auf Spuren von Barium zurückzuführen sind.

---

[8] Gaddum, J. H.: Gefäßerweiternde Stoffe der Gewebe, S. 76. Leipzig 1936.

Es wurde noch versucht, das langwierige Eindampfen im Vakuum zu umgehen, indem wir entsprechend den Angaben von Loewi und Hellauer[9] die mit Äther extrahierten Proben mit O_2 + 5% CO_2 durchperlten, um so den Äther zu verjagen. Bei den von uns angewandten A. Ch.-Konzentrationen war nach dieser Durchblasung das gesamte A. Ch. zerstört. Dies geschah aber nur bei den ätherhaltigen Proben. Einfach wässerige A. Ch.-Lösungen zeigten dieses Verhalten nicht.

Versuchsergebnisse.

1. Atropin.

Zur Klärung der Frage, ob durch Atropin die Zellmembran für A. Ch. schwerer passierbar wird, wurde zunächst eine Versuchsanordnung gewählt, die sich an diejenige von Straub beim Kaltblüterherzen anlehnt. Straub verwandte künstliches Muscarin, das von der Cholinesterase nicht gespalten wird. Wir schafften für das A. Ch. gleiche Verhältnisse, indem wir auf das Herz vorher 10 Minuten lang Prostigmin in einer Konzentration 1 : 1 Million einwirken ließen, die nach den Befunden von Genuit die Gewebsesterase des Kaninchenherzens vollständig hemmt. Dann wurde eine bestimmte Menge A. Ch. zugegeben (0,2—2,0 γ) und seine Konzentration nach 2 und 10 Minuten in der Durchströmungsflüssigkeit bestimmt. Die gleichen Versuche wurden nach Einwirkung von Prostigmin + Atropin durchgeführt. Tabelle 1 zeigt die Ergebnisse aus einem solchen Versuch.

Die Versuche mit Prostigmin allein zeigen übereinstimmend ein überraschendes Ergebnis. Nach den Versuchen von Straub und nach den Vorstellungen über den Potentialwirkungsmechanismus des A. Ch. war anzunehmen, daß die A. Ch.-Konzentration in der Durchströmungsflüssigkeit ständig abnehmen und die A. Ch.-Wirkung auf das Herz dann bei Sättigung der Zelle erlöschen würde. Wie aus der Tabelle er-

Tabelle 1. Verteilung von A. Ch. in Herzmuskel und Durchströmungsflüssigkeit vor und nach Atropin bei gleichzeitiger Esterasehemmung durch Prostigmin.

Versuch Nr.	Prostigmin-Endkonz.	Atropin-Endkonz.	A. Ch. in γ	Nach Min.	A. Ch.-Konzentration in der Durchströmungsflüssigkeit gefunden	berechnet aus A. Ch.-Dosis u. System-Vol.
1	1 : 1,2 Mill.	—	2,0	2	1 : 13,7 Mill.	1 : 14,2 Mill.
				10	1 : 13,7 „	
	1 : 1,2 Mill.	1 : 1,2 Mill.	2,0	2	1 : 11,1 „	1 : 14,2 Mill.
				10	1 : 12,0 „	
	1 : 1,2 Mill.	1 : 1,2 Mill.	2,0	10	1 : 14,6 „	1 : 14,2 Mill.
				20	1 : 13,8 „	

[9] Loewi, O., u. H. Hellauer: Pflügers Arch. **240**, 449 (1938).

sichtlich, ist aber die Konzentration in allen Fällen nach 2 Minuten ebenso hoch wie nach 10 Minuten, und diese Konzentration entspricht innerhalb der Fehlergrenze der Methode genau der Konzentration, die sich aus A. Ch.-Dosis und Gesamtvolumen des Systems, bestehend aus Herz und Durchströmungsflüssigkeit bei Annahme gleichmäßiger Verteilung errechnen läßt. Es kommt somit zu einem völligen Konzentrationsausgleich des A. Ch. zwischen Durchströmungsflüssigkeit und Herzmuskel. Das Auffallende nun war, daß trotz des Konzentrationsausgleichs, der nach den Vorstellungen der Potentialtheorie eine Vernichtung der Wirkung bedingen sollte, die Wirkung unverändert die ganzen 10 Minuten anhält.

Bei Vorbehandlung der Herzen mit Prostigmin + Atropin war die A. Ch.-Konzentration nach 2 Minuten in den meisten Fällen höher als in den entsprechenden Versuchen mit Prostigmin allein. Die Unterschiede sind jedoch nicht so stark, daß hieraus schon sicher auf eine abdichtende Wirkung des Atropins am Warmblüterherzen geschlossen werden könnte. Die negativ ino- und chronotrope Wirkung des A. Ch. war dabei immer wesentlich abgeschwächt oder vollständig aufgehoben. Vielleicht wären deutlichere Unterschiede zu erhalten gewesen, wenn die ersten Proben nach kürzeren Zeiten als 2 Minuten entnommen worden wären. Da bei einer Verkürzung der Zeit aber die Fehlermöglichkeiten wesentlich zugenommen hätten, suchten wir auf anderem Wege die Erschwerung der Membranpassage für A. Ch. durch Atropin nachzuweisen.

Die folgenden Versuche wurden ohne Hemmung der Gewebsesterase durchgeführt. Das zugesetzte A. Ch. wird dabei mit einer bestimmten Geschwindigkeit zerstört. Wenn die A. Ch.-Dosis nicht zu hoch ist, so bleibt die Zerstörungsgeschwindigkeit bei mehreren aufeinanderfolgenden A. Ch.-Gaben gleich. Wie einleitend ausgeführt wurde, befindet sich die Gewebsesterase innerhalb der Zellen. Wenn nun das A. Ch. langsamer in die Zelle eindringen kann, weil das Atropin die Zellmembran abdichtet, muß die Zerstörungsgeschwindigkeit entsprechend abnehmen, und damit der nach einer bestimmten Zeit in der Durchströmungsflüssigkeit nachweisbare Rest von A. Ch. größer sein als ohne Vorbehandlung des Herzens mit Atropin.

Die Ergebnisse von Versuchen, die entsprechend den obigen Erwägungen durchgeführt wurden, zeigt die Tabelle 2.

Die für den A. Ch.-Rest mit und ohne Atropin gefundenen Werte zeigen, daß in der Tat der A. Ch.-Rest nach Atropineinwirkung größer ist als ohne Atropin. Die zahlenmäßigen Unterschiede sind zwar wie bei der ersten Versuchsreihe nicht übermäßig groß, jedoch liegen sie außerhalb der Fehlergrenze und zeigen in allen Versuchen denselben Gang. Es wäre wüschenswert gewesen, die Tatsache der scheinbaren Esterasehemmung unter Atropin noch dadurch zu sichern, daß ebenso wie in den Versuchen von Genuit und Labenz nach der Probe mit Atropin noch einmal die Zerstörungsgeschwindigkeit ohne Atropin geprüft worden wäre. Ein

Tabelle 2. A. Ch.-Spaltung am Kaninchenherzpräparat ohne Hemmung der Gewebsesterase vor und nach Atropinisierung.
Die eingerahmten Zahlen entsprechen den Versuchen auf Abb. 3 und 4.

Versuch Nr.	Atropin-Endkonz.	A. Ch. zugesetzt in γ	A. Ch.-Rest nach 2 Min. in γ	A. Ch.-Rest nach 5 Min. in γ	Gesamtsystem-Volumen
1	—	5	3,61		
	—	5	3,72	1,23	
	1:330000	5	5,06	2,9	25,3 ccm
	1:330000	5	4,52	2,0	(Herzgewicht 8,3 g)
	—	5	5,18	2,9	
2	—	5	4,24	1,8	19,7 ccm
	1:300000	5	4,84	2,18	(Herzgewicht 4,4 g)
3	—	10		3,8	
	—	10		4,3	21,2 ccm
	1:1 Mill.	10		5,8	(Herzgewicht 6,5 g)
	1:200000	10		6,4	

Zurückgehen der Werte für den A. Ch.-Rest auf die Größen vor Atropin hätte die Tatsache der Atropineinwirkung weiter erhärtet. Nun ist bekannt, daß an vielen Testobjekten die Atropinwirkung nur sehr schwer auswaschbar ist — so auch am Herzen. Die letzte Probe aus Versuch 1 in Tabelle 2 bestätigt auch in unserer Anordnung diese Befunde. Es wurde dort nach dem letzten Atropinversuch nach einstündiger Durchströmung des Herzens mit Ringerlösung eine Bestimmung des A. Ch.-Restes vorgenommen. Ebenso wie das Wirkungsbild des A. Ch. am Herzen war auch der A. Ch.-Rest gegenüber den Versuchen unter Atropin unverändert. Die Atropinwirkung hielt also trotz der einstündigen Auswaschung noch an.

Atropinwirkung am Herzmuskelextrakt.

Die für den Beweis, daß die Hemmung der Esterase durch Atropin am intakten Herzen eine scheinbare ist, notwendigen Versuche am Herzmuskelextrakt ergaben:

In keinem der Versuche trat mit Atropin bis zu Konzentrationen von 1 : 10000 eine Hemmung der Esterase auf, die nunmehr nicht in der Zelle, sondern in der Lösung frei vorhanden war.

2. Tannin.

Die abdichtende Wirkung des Tannins auf Zellmembranen für verschiedene Stoffe ist bekannt. Kürzlich untersuchten Brock und Druckrey[10] diese Wirkung des Tannins am Froschherzen in bezug auf das

[10] Brock u. H. Druckrey: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 186 (1938).

Calcium und zeigten histochemisch, daß das Tannin sich an der Oberfläche der Herzmuskelzellen ablagert. Es lag nun nahe zu untersuchen, ob durch diese Tanninablagerung an der Zelloberfläche der Durchtritt von A. Ch. durch die Membran erschwert wird.

Wir unternahmen das in unserer Anordnung, nachdem in Kontrollversuchen sichergestellt war, daß Tanninkonzentrationen von 1 : 10 Millionen bis 1 : 2000 die A. Ch.-Reaktion am Blutegel nicht störten.

In einer weiteren Versuchsreihe wurde vorher festgestellt, daß Tanninkonzentrationen bis 1 : 10000 die Esterasewirkung des Herzmuskelbreis nicht hemmen.

Tabelle 3 zeigt nun die Ergebnisse der Versuche, in denen die A. Ch.-Zerstörungsgeschwindigkeit am intakten Herzen mit und ohne Tannin geprüft wurde.

Tabelle 3. A. Ch.-Spaltung am Kaninchenpräparat ohne Hemmung der Esterase vor und nach Tannin.

Die eingerahmten Zahlen entstammen den Versuchen der Abb. 1 und 2.

Versuch Nr.	Tannin-Endkonz.	Zugesetztes A. Ch. in γ	A. Ch.-Rest nach 5 Min. in γ	Gesamtsystem-Volumen
1	—	10	2,24	24.7 ccm (Herzgewicht 7,8 g)
	—	10	2,28	
	—	10	2,18	
	1 : 5 Mill.	10	3,03	
	1 : 1 Mill.	10	2,95	
	1 : 200000	10	2,85	
2	—	5	3,0	20,2 ccm (Herzgewicht 6,0 g)
	—	5	3,4	
	1 : 5 Mill.	5	5,6	
	1 : 1 Mill.	5	6,9	
	1 : 200000	5	6,1	
	1 : 40000	5	7,4 (5,2)	

Aus den Werten für den A. Ch.-Rest nach 5 Minuten ist ersichtlich, daß das Tannin ebenso wie das Atropin eine scheinbare Hemmung der Gewebsesterase nach unserer Deutung also eine Abdichtung der Zellmembran für A. Ch. bewirkt. Die zahlenmäßigen Unterschiede sind hier noch deutlicher als beim Atropin, die Abdichtung der Membran also entsprechend stärker.

Die zunächst auffällige Tatsache, daß in Versuch Nr. 2 (Tabelle 3) der A. Ch.-Rest nach 5 Minuten größer ist als die ursprünglich zugesetzte A. Ch.-Dosis, findet zwanglos ihre Erklärung in der angewandten Berechnungsmethode. Es wurde ja in einem aliquoten Teil der Durchströmungsflüssigkeit die A. Ch.-Konzentration nach 5 Minuten bestimmt. Der Wert für den A. Ch.-Rest wurde dann berechnet unter der Voraus-

setzung gleichmäßiger Verteilung des A. Ch. auf Durchströmungsflüssigkeit und Herz. Wenn nun die Zellmembranen kein A. Ch. durchlassen, darf die Berechnung im Grenzfall nur das Volumen der Durchströmungsflüssigkeit zugrunde legen. Bei der letzten Probe in Versuch 2 (Tabelle 3) ist die Berechnung so durchgeführt worden und der Wert in Klammern beigefügt. Es ist daraus zu ersehen, daß in diesem Versuch überhaupt

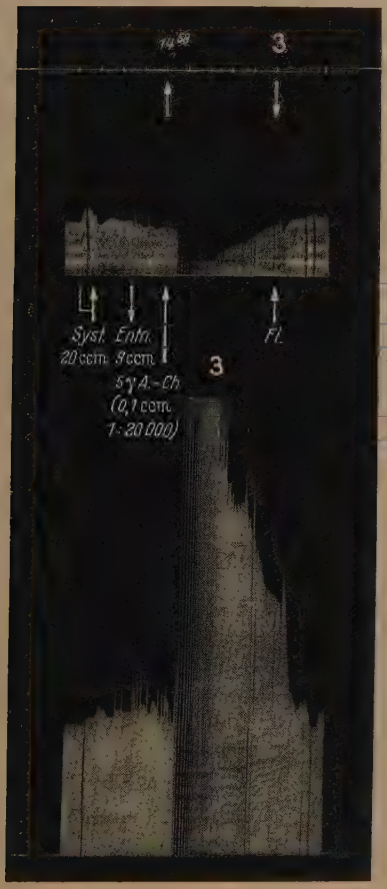


Abb. 1. A. Ch.-Wirkung am nicht vorbehandelten isolierten Kaninchenherzen. Die obere Kurve ist in der üblichen Weise mit einem Schreibhebel aufgezeichnet, der an der Herzspitze angreift. Die untere Kurve ist mit Hilfe eines Ordinatenzeitschreibers registriert. Die Höhe der Ordinaten ist proportional dem zeitlichen Abstand von zwei Ventrikelsystolen.

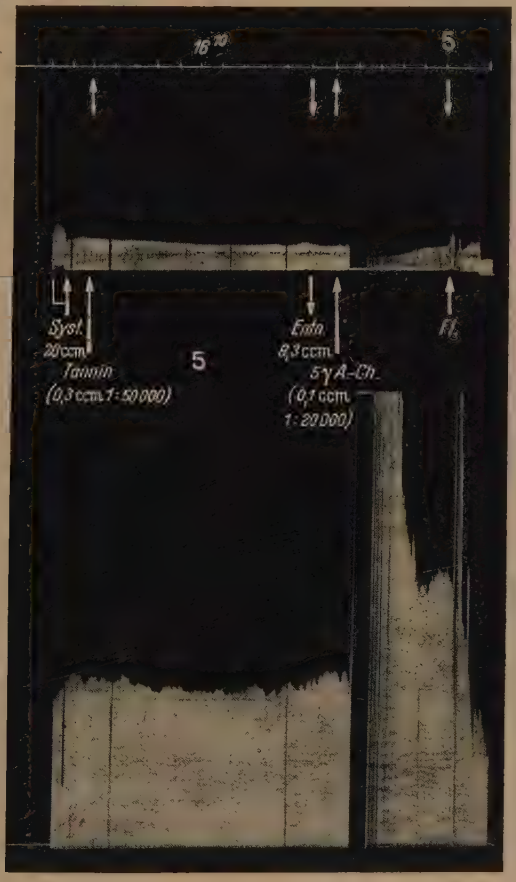


Abb. 2. Wirkung der gleichgroßen Dosis A. Ch. am selben Herzen wie in Abb. 1 nach Vorbehandlung mit Tannin 1 : 5 Millionen.

kein A. Ch. in das Herz eingedrungen sein kann, da sich die zugesetzte Menge von 5 γ noch vollständig in der Durchströmungsflüssigkeit wiederfindet.

Es ist also festzustellen, daß das Tannin die Zellmembran für das A. Ch. noch stärker abdichtet als das Atropin. Dagegen wird die Wirkung des A. Ch. am Herzen durch kleine Tanninkonzentrationen nicht beeinflußt, wie das aus den Kurven der Abb. 1 und 2 deutlich hervorgeht. Dieses Verhalten findet eine Parallele in den Befunden von Jung[11], welcher

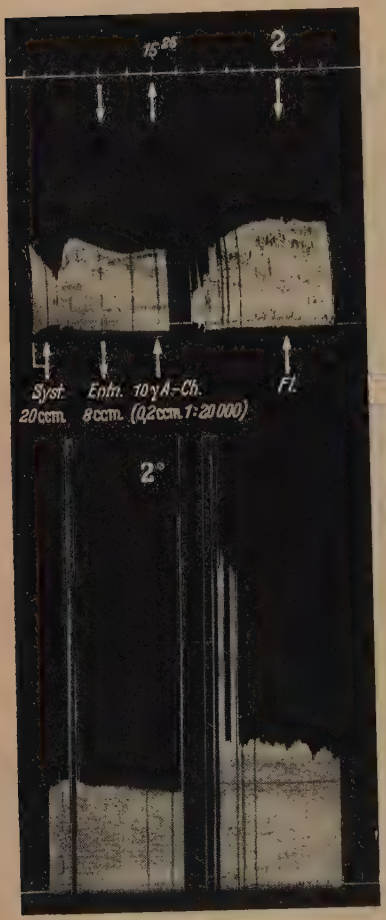


Abb. 3. A. Ch. am nicht vorbehandelten Herzen.

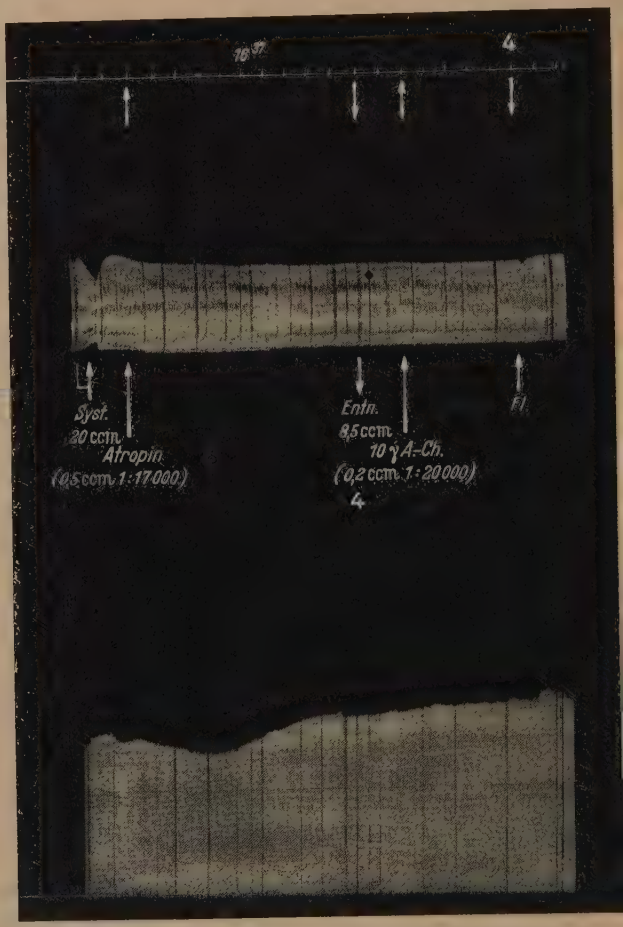


Abb. 4. Wirkung einer gleichgroßen A. Ch.-Dosis am selben Herzen wie in Abb. 3 nach Vorbehandlung mit Atropin 1 : 1 Mill.

fand, daß die Wirkung von Doryl am Froschherzen durch Tannin nicht verändert wird.

Die Abb. 3 und 4 zeigen als Gegenstück den Versuch mit Atropin, der ähnliche Werte für die Membranabdichtung lieferte (vgl. Tabelle 2,

[11] Jung, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 302 (1940).

Nr. 3). Hier ist die negative chronotrope Wirkung völlig aufgehoben.

Wenn nun aber beide Stoffe die Zellmembran für A. Ch abdichten, der eine die A. Ch.-Wirkung am Herzen aufhebt, der andere jedoch nicht, so kann die Aufhebung der A. Ch.-Wirkung durch Atropin nicht auf einer Behinderung des Eindringens von A. Ch. in die Zelle beruhen.

Bei der Wirkung kleinerer Tanninkonzentrationen, bei denen eine Beeinflussung der A. Ch.-Wirkung nicht auftrat, drang immer noch ein Teil des A. Ch. in die Herzmuskelzellen ein. Bei den höheren Tanninkonzentrationen bleibt das A. Ch. dagegen, wie die Berechnung in Tabelle 3, Nr. 2, zeigt, vollständig in der Durchströmungsflüssigkeit. Für die Aufrechterhaltung der Definition der Potentialtheorie, daß die Wirkung des A. Ch. proportional der pro Zeiteinheit in die Zelle eindringenden Moleküle sei, wäre es wichtig, ob jetzt überhaupt noch eine A. Ch.-Wirkung auftritt. Leider wird die Herzaktion durch die hohen Tanninkonzentrationen so beeinflußt, daß die Wirkung einer A. Ch.-Gabe nicht mehr beurteilt werden kann. Ein Stoff, der die Zellmembran völlig für A. Ch. abdichtet, ohne das Herz zu schädigen, ist bis jetzt nicht bekannt.

Zusammenfassung.

An Kaninchenherzen, die im geschlossenen Coronarkreislauf durchströmt werden, bewirken Atropin und Tannin eine mehr oder weniger starke Abdichtung der Zellmembran für A. Ch.

Die dazu erforderlichen Konzentrationen von Atropin heben die A. Ch.-Wirkung am Herzen auf, die des Tannins beeinflussen die A. Ch.-Wirkung nicht.

Der Antagonismus zwischen Atropin und A. Ch. am Herzen kann also nicht im Sinne der Potentialgifttheorie darauf beruhen, daß das Atropin das Eindringen in die Zelle verhindert.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Münster.
(Direktor: Prof. Dr. L. Lendle.)

Zum Wirkungsmechanismus des Acetylcholins.

I. Mitteilung.

Von

H. Genuit und W. Kübel.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 11. März 1943.)

Für das künstliche Muskarin wurde von Straub[1] zur Erklärung des Wirkungsmechanismus die Potentialgifttheorie aufgestellt. Kahlson[2] führte den Nachweis, daß dem Acetylcholin (A. Ch.) ein gleicher Wirkungsmechanismus zukommt, wie ihn Straub für das chemisch nah verwandte Muskarin aufgestellt hatte.

Die Gruppe der Potentialstoffe umfaßt nur eine relativ geringe Zahl von Pharmaka, unter denen sich allerdings für die normale Funktion des tierischen Organismus besonders wichtige Stoffe wie das A. Ch. und das Adrenalin befinden. Diese beiden Stoffe haben seit den Untersuchungen von Dale[3] und Loewi[4] erhöhtes Interesse, da sie die chemischen Übermittler der autonomen Nervenerregung sind.

Die Wirkungsweise der Potentialstoffe wurde besonders eingehend von Gremels[5] und seinen Mitarbeitern untersucht. Die Befunde dieser Autoren im Hinblick auf die Potentialtheorie besagen, daß entsprechend der Dauerbildung von A. Ch. und Adrenalin an den Nervenendigungen und durch die Verseifung bzw. Oxydation dieser Stoffe in den Zellen dauernd ein Konzentrationsgefälle, ein Potential, in der Richtung zum Zellinnern aufrechterhalten wird. Das Verhältnis der Potentiale beider Stoffe zueinander ist nach Gremels maßgebend für die Höhe des arteriellen Blutdruckes. Bei hohem A. Ch.- und niedrigem Adrenalinpotential soll der Blutdruck niedrig sein; umgekehrt soll er bei niedrigem A. Ch.- und hohem Adrenalinpotential hoch sein.

Mit diesen Vorstellungen sucht nun Zinnitz[6] Besonderheiten der blutdrucksenkenden Wirkung von zusätzlich injiziertem A. Ch. in Einklang zu bringen. Nach seinen Befunden ist die Latenzzeit, die Intensität und

---

[1] Straub: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **119**, 127 (1907). — [2] Kahlson: Ebenda **169**, 44 (1932). — [3] Dale: J. Pharmacol. (Am.) **6**, 142 (1914). — [4] Loewi: Pflügers Arch. **189**, 239 (1921). — [5] Gremels: Ergebn. Physiol. **42**, 53 (1938). — [6] Zinnitz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 328 (1938).

die Dauer der blutdrucksenkenden Wirkung abhängig von dem Konzentrationspotential, das eine von außen zugeführte A. Ch.-Menge am Wirkungsort vorfindet. Die Latenzzeit ist nach Zinnitz bei niedrigem Blutdruck lang, bei hohem kurz, weil die gleiche Dosis von injiziertem A. Ch. bei niedrigem Blutdruck — also bei hohem A. Ch.-Potential — eine verhältnismäßig lange Zeit braucht, um das vorhandene hohe A. Ch.-Potential um einen wirksamen Betrag zu erhöhen. Bei hohem Blutdruck mit entsprechend niedrigem A. Ch.-Potential sollen die Verhältnisse umgekehrt liegen. Ganz analog ist nach Zinnitz die Intensität der Blutdrucksenkung bei niedrigem Ausgangsblutdruck gering, da die zusätzliche A. Ch.-Menge das vorhandene hohe A. Ch.-Potential um einen relativ kleinen Betrag steigert. Die gleiche A. Ch.-Dosis bei hohem Blutdruck — d. h. bei niedrigem A. Ch.-Potential injiziert — ändert dieses Potential um einen prozentual größeren Betrag und bedingt so eine stärkere Wirkung.

Als weitere Besonderheit der Potentialstoffe endlich wird von Gremels das Vorhandensein einer oberen Grenzwirkungsmenge angesehen. Stellt man nämlich die Wirkungsstärke des A. Ch., Adrenalins und Sympatols als Funktion der Dosis kurvenmäßig dar, so sieht man nach anfänglich steilem Anstieg oberhalb einer gewissen Dosis, der sog. oberen Grenzwirkungsmenge, die Kurve der Abszisse nahezu parallel verlaufen. Wir haben also eine Exponentialfunktion vor uns.

Nach den Untersuchungen von Gremels und Mitarbeitern wurde ein Potentialstoffcharakter nicht nur für die körpereigenen Wirkstoffe A. Ch. und Adrenalin, sondern auch für das dem Adrenalin verwandte Sympatol festgestellt. Es interessierte uns nun die Frage, ob auch für andere Stoffe, die wie A. Ch. den arteriellen Blutdruck senken und die alle bisher nicht zu den Potentialstoffen gerechnet werden, sich die obengenannten Besonderheiten in den Beziehungen zwischen Dosis, Wirkungsintensität, Blutdruckausgangshöhe und Latenzzeit finden, oder ob diese Beziehungen dort grundsätzlich andersartig sind.

Methodik.

Zur Untersuchung kamen Muskeladenylsäure „Henning", Papaverin hydrochlor. „Merck" und ein neuerdings von Stern[7] untersuchter Stoff, das 4-Dimethyl-aminophenyl-piperidin-chlorhydrat, das unter dem Namen „Irenal"* im Handel ist.

Versuchstiere waren Katzen mit einem Gewicht von 1900—3900 g. Als Narkoticum wurde Chloralose in einer Dosierung von 70—90 mg/kg benutzt. Die

[7] Stern: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **199**, 251 (1942).

* Herrn Dr. P. Stern und der Firma Kastel A.-G., Zagreb, möchten wir für die Überlassung einer Versuchsmenge des Irenal auch an dieser Stelle unseren Dank aussprechen.

Chloralose wurde etwa 1%ig bei 40° C in physiologischer Kochsalzlösung gelöst und den Tieren i. m. injiziert. In einem Teil der Versuche lösten wir die Chloralose mit 0,5 g Urethan, um kleinere Flüssigkeitsmengen injizieren zu können. Wie Kontrollen zeigten, beeinflußt der Zusatz von 0,5 g Urethan/Tier die Versuchsergebnisse nicht.

Zur Registrierung des Blutdrucks in der rechten A. femoralis verwendeten wir ein Quecksilbermanometer und die Trendelenburgsche Gegenstromapparatur mit m/6 Na_2CO_3-Lösung. Die Herzfrequenz wurde gleichzeitig mit einem nach dem Fleischschen Prinzip arbeitenden Ordinatenschreiber aufgezeichnet. Die Auslösung des Kontaktes bei jeder Herzaktion erfolgte ohne Eröffnung des Thorax mit Hilfe der Blutdruckamplitude nach einem von Genuit und Ruppert[8] angegebenen Verfahren*.

Die verschiedenen Dosen des A. Ch. und der anderen untersuchten Stoffe waren immer, wenn nicht besonders angegeben, in 0,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung enthalten; wir injizierten also immer die gleiche Flüssigkeitsmenge. Ein am Spritzenstempel angebrachter Kontakt verzeichnete den Zeitpunkt der Injektion mit Hilfe eines Markiermagneten exakt auf der Kurve. Wir bemühten uns, die Injektionen möglichst schnell und gleichmäßig auszuführen. Erst nachdem die Wirkung des injizierten Stoffes abgeklungen war, spülten wir die Kanüle mit 0,5 ccm physiologischer NaCl-Lösung nach. Die Injektionsdauer betrug 0,3 bis 0,6 Sek. Die Latenzzeit wurde vom Beginn der jeweiligen Injektion gerechnet.

Zur Prüfung der Abhängigkeit der blutdrucksenkenden Wirkung gleicher Dosen bei verschieden hohem Blutdruck, stellten wir verschiedene Blutdruckhöhen mit Adrenalindauerinfusion ein. Dazu diente uns eine geeignete Dauerinfusionsapparatur mit einer 10 ccm-Glasspritze. Die pro Minute infundierten Flüssigkeitsmengen betrugen in 6 Stufen 0,111—0,446 ccm. Dem entsprachen bei Adrenalinlösungen von 1/20000 und 1/5000 Dosen von 5,06—89,2 γ/Min. in 12 Stufen, wobei die 6. und 7. Stufe gleiche Werte ergibt. Die Adrenalinlösungen wurden durch Zusatz von je 2 Tropfen n/10 HCl auf 10 ccm stabilisiert.

Versuchsergebnisse.

1. Acetylcholin.

Um unsere Versuchsanordnung und -technik zu überprüfen und Vergleichswerte am eigenen Tiermaterial zu haben, versuchten wir zunächst, die von Gremels und Mitarbeitern beim A. Ch. erhobenen Befunde zu reproduzieren. Auch in unseren Versuchen war bei gleichbleibender Blutdruckhöhe nach Einzelinjektion verschiedener A. Ch.-Dosen in jedem Falle eine charakteristische obere Grenzwirkungsmenge zu beobachten. Sie lag ziemlich gleichmäßig in dem Bereich von 0,04—0,06 γ/Tier. Die untere Grenzwirkungsmenge, bei der eben eine sichtbare Blutdrucksenkung auftrat, lag im allgemeinen bei etwa 0,006 γ.

Entsprechend der Vorschrift von Zinnitz benutzten wir zur Bestimmung der Latenzzeit Dosen, die zum Teil wesentlich oberhalb der

[8] Genuit u. Ruppert: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **200**, 684 (1943).

* Die Apparatur wurde inzwischen als Membranmanometer konstruiert. Sie ist in dieser Form kleiner, handlicher und noch betriebssicherer.

oberen Grenzwirkungsmenge lagen. Aus denselben Versuchen ergaben sich auch die Werte für die Beziehung von Intensität der Blutdrucksenkung (bei gleichbleibender Dosis) zur Ausgangshöhe des Blutdruckes. Diese Abhängigkeit ließ sich ebenfalls in allen Versuchen sehr exakt feststellen. Abb. 1 stellt die Ergebnisse eines typischen Versuchs dar.

Abb. 2 gibt die aus dem gleichen Versuch wie Abb. 1 gewonnenen Werte für die Latenzzeit der A. Ch.-Wirkung in Abhängigkeit vom Ausgangsblutdruck wieder.

Wie auch bei Zinnitz liegen die Werte für die Latenzzeiten im Bereich von 3—10 Sek. Im Gegensatz zu seinen Befunden fanden wir

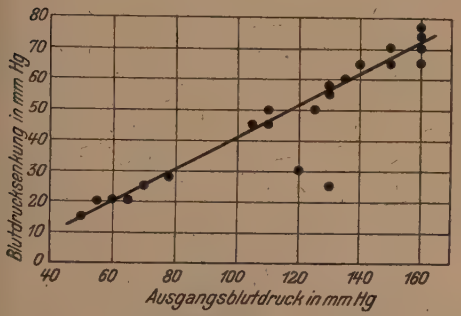


Abb. 1. Wirkungsintensität einer Dosis von 3 γ A. Ch. bei verschieden hohem Ausgangsblutdruck. Versuch am 12. Mai 1942: Katze 2030 g, 70 mg/kg Chloralose mit 0,5 g Urethan, A. Ch.-Dosis 3,0 γ pro Injektion.

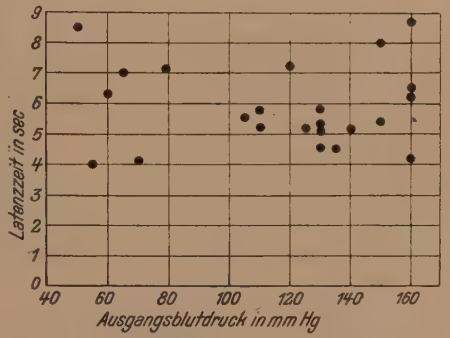


Abb. 2. Latenzzeiten der A. Ch.-Wirkung bei verschieden hohem Ausgangsblutdruck. A. Ch.-Dosis 3 γ pro Injektion.
Versuch am 12. Mai 1942: Katze 2030 g, 70 mg/kg Chloralose mit 0,5g Urethan, A. Ch.-Dosis 3,0 γ pro Injektion.

jedoch keine Abhängigkeit von der Ausgangshöhe des Blutdruckes. Wie aus Abb. 2 zu ersehen ist, streuen die Latenzzeiten sehr erheblich. In einem Teil der Versuche war die Streuung geringer. Wenn man trotz dieser Streuung versuchen wollte, eine Schwerpunktslinie zu ziehen, so könnte diese nur parallel der X-Achse verlaufen. Die unterschiedlichen Ergebnisse veranlaßten uns zu mehrfacher Wiederholung der Versuche in derselben Anordnung an 9 verschiedenen Tieren. Doch blieb das Ergebnis in allen Fällen das gleiche. Wir dachten zunächst daran, die Narkose könnte vielleicht die unterschiedlichen Ergebnisse bedingt haben, da wir im Anfang die jeweilige Chloralosedosis mit 0,5 g Urethan gelöst der Katze in leichter Äthernarkose in die V. jugularis injizierten. Wir spritzten deshalb später in strenger Anlehnung an die Versuchsbedingungen von Zinnitz nur noch 70 mg/kg Chloralose etwa 1%ig in physiologischer NaCl-Lösung gelöst dem Tier an verschiedenen Stellen in die Muskulatur. Diese Maßnahme änderte die Versuchsergebnisse jedoch nicht.

Der Unterschied war uns nicht erklärlich, da wir unter den gleichen Versuchsbedingungen wie Zinnitz arbeiteten und vor allem die übrigen

von ihm beschriebenen Eigenschaften des A. Ch. am Blutdruck der Katze reproduzieren konnten. So konnten wir bei 10 Tieren die gleiche lineare Abhängigkeit der Wirkungsintensität von der Ausgangsblutdruckhöhe feststellen.

Bei 5 weiteren Katzen wurde die Dosiswirkungskurve für gleichen Ausgangsblutdruck ermittelt und dabei immer die typische Exponentialkurve gefunden, wie sie von Gremels[5] beschrieben wurde. Bei 3 Hunden ergaben sich bei entsprechend höheren A. Ch.-Dosen die gleichen Kurven, und zwar sowohl für die intravenöse Injektion, als auch für die Injektion in die Aorta, in eine periphere Arterie oder eine Pulmonalvene. Wir sahen uns deshalb veranlaßt, besondere Untersuchungen zur Frage der Latenzzeit durchzuführen, die in einer folgenden Mitteilung dargestellt werden.

Es ist interessant, daß auch Zinnitz[6] ähnliche Verhältnisse, wie sie unsere Abb. 2 zeigt, an der Spinalkatze fand und dort den Wegfall des zentralen Vagustonus als Ursache dafür ansieht. In unseren Versuchen in Chloralosenarkose konnte, selbst wenn in einigen Fällen vorher Äther und gleichzeitig eine geringe Menge Urethan (0,5 g/Tier) gegeben wurde, von einem Fortfall des zentralen Vagustonus nicht die Rede sein. Eine derartige Ursache kommt also zur Erklärung unserer abweichenden Ergebnisse nicht in Frage.

2. Papaverin, Muskeladenylsäure und Irenal.

In genau der gleichen Versuchsanordnung wie beim A. Ch. wurden auch Papaverin. hydrochlor. „Merck", Muskeladenylsäure „Henning" sowie in orientierenden Versuchen das Irenal am Blutdruck der Katze jeweils an einer Serie von Tieren untersucht. Die Abb. 3—5 zeigen kurvenmäßig die Ergebnisse eines typischen Versuchs mit Papaverin. hydrochlor.

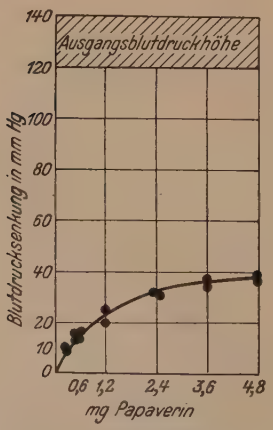


Abb. 3. Dosiswirkungskurve für Papaverin hydrochlor. bei gleicher Ausgangshöhe des Blutdruckes. Versuch am 5. November 1942; Katze 2370 g, Chloralose 75 mg/kg, Urethan 0.5 g/Tier.

Die Dosiswirkungskurve (Abb. 3) zeigt so klar das Bild einer Exponentialkurve, wie sie auch beim A. Ch. nicht typischer gefunden wurde. Die Dosiswirkungskurve wurde an 4 verschiedenen Tieren festgelegt und hatte jedesmal den exponentialen Charakter.

Eine Erweiterung dieser Kurve in das Gebiet höherer Dosen erwies sich als unmöglich, weil dann neben der rein blutdrucksenkenden Wirkung des Papaverins noch Irregularitäten der Herzschlagfolge hinzukamen, die eine exakte Auswertung der Blutdruckkurven erschwerten. Die Abb. 4 zeigt die Wirkungsintensität der gleichen Papaverin hydrochlor.-Dosis von 3,0 mg

bei verschiedenen Blutdruckhöhen, die durch Adrenalindauerinfusionen eingestellt wurden. Auch hier zeigt sich wie beim A. Ch. eine ganz klare Abhängigkeit der Wirkungsintensität von der Höhe des Ausgangsblutdruckes, die in zwei weiteren Versuchen ebenso eindeutig bestätigt wurden.

Die aus dem gleichen Versuch wie Abb. 4 gewonnenen Latenzzeiten sind auf Abb. 5 dargestellt. Man könnte bei dieser Abbildung fast geneigt sein, eine Schwerpunktsgerade von links unten nach rechts oben einzuzeichnen. Dieses Verhalten wäre den Befunden von Zinnitz beim A. Ch. entgegengesetzt. Die übrigen Versuche mit Papaverin ließen aber eine solche Abhängigkeit nicht erkennen. Die Latenzzeiten streuten dabei

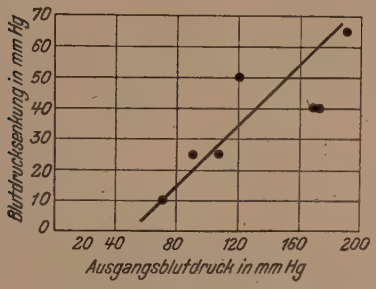


Abb. 4. Intensität der Blutdrucksenkung einer Dosis von 3 mg Papaverin bei verschieden hohem Ausgangsblutdruck.
Versuch am 5. November 1942; Katze 2370 g, Chloralose 75 mg/kg, Urethan 0,5 g/Tier.

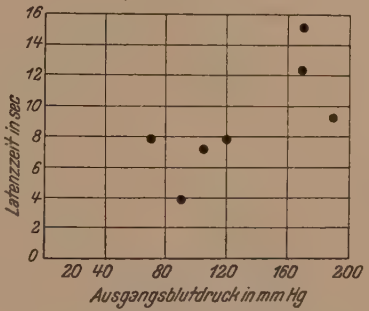


Abb. 5. Latenzzeit der Blutdrucksenkung einer Dosis von 3 mg bei verschieden hohem Ausgangsblutdruck.
Versuch am 5. November 1942; Katze 2370 g, Chloralose 75 mg/kg, Urethan 0,5 g/Tier.

meist stärker als in den entsprechenden A. Ch.-Versuchen in einem Bereich von 4—15 Sek., ohne daß eine eindeutige Abhängigkeit der Latenzzeit von der Ausgangshöhe des Blutdruckes festzustellen war.

Auch bei der Muskeladenylsäure zeigten die Dosiswirkungskurven den gleichen Verlauf wie bei den Versuchen mit A. Ch., wie Abb. 6 zeigt.

In allen 4 Versuchen ergab sich das Bild einer Exponentialfunktion mit dem typischen Umbiegen zu einem der X-Achse parallelen Verlauf. In dem der Abb. 6 entsprechenden Versuch wurden bei einem gleichbleibenden Blutdruck von 130—140 mm Hg die Dosen in aufsteigender Reihe injiziert. Danach stellte sich der Blutdruck auf eine Höhe von 100—120 mm Hg ein und dieselben Dosen wurden ein zweites Mal eingespritzt. In anderen Versuchen injizierten wir die verschiedenen Dosen in abnehmender Reihenfolge oder zum Teil zweimal die gleiche Dosis, um eine Beeinflussung der Wirkungsintensität durch die vorhergehende Dosis ausschließen zu können.

Bei der Muskeladenylsäure konnte leider nur dieser Teil der blutdrucksenkenden Wirkung untersucht werden. Bei dem Versuch, die Beziehung

zwischen Intensität und Blutdruckausgangshöhe einer Dosis oberhalb der oberen Grenzwirkungsmenge aufzuklären, zeigte die Muskeladenylsäure ein eigentümliches Verhalten, das unseres Wissens bisher noch nicht beschrieben wurde. Wir beobachteten nämlich, daß nach Aufstellen der Dosiswirkungskurve bei dem Tier auch mit hohen Adrenalindauerinfusionen (bis 89,2 γ/Min.) keine Blutdrucksteigerung zu erreichen war. Beim nächsten Versuch wurde der Blutdruck ohne vorherige Gabe von M. A. mit Adrenalin auf eine Höhe von 130 mm Hg gebracht (Blutdruck vorher etwa 90 mmHg). Bei dieser Blutdruckhöhe bewirkte die Injektion von 1,2 mg, einer Dosis,

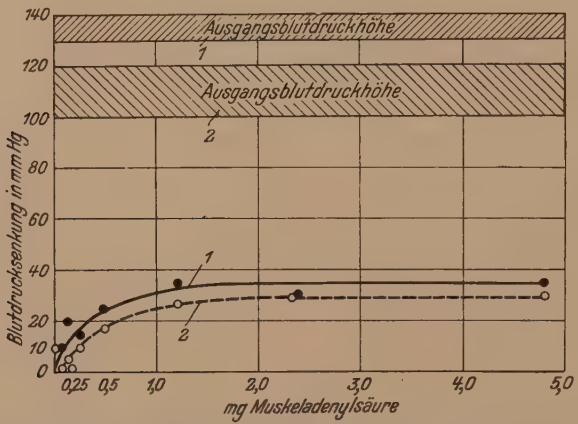


Abb. 6. Dosiswirkungskurven für Muskeladenylsäure am gleichen Tier bei zwei verschiedenen Blutdruckausgangshöhen.
Versuch am 19. November 1942; Katze 2825 g, Chloralose 75 mg/kg, Urethan 0,5 g/Tier.

die bei allen vorhergehenden Versuchen etwa der oberen Grenzwirkungsmenge entsprochen hatte, nur eine sehr geringe Senkung des Blutdruckes um weniger als 5 mm Hg. Nach Absetzen der Adrenalindauerinfusion und Absinken des Blutdruckes auf 75 mm Hg hatte dieselbe Dosis M. A. eine Blutdrucksenkung um 20 mm Hg zur Folge. Eine erneute Adrenalininfusion in derselben Höhe wie vorher brachte den Blutdruck jetzt nur auf ein Niveau von 100 mm Hg. Eine Injektion von 1,2 mg M. A. senkte dabei um 10 mm. Dosen von 2,4 und 4,8 mg senkten den Blutdruck um 12 bzw. 24 mm Hg. Nach erneutem Absetzen der Adrenalininfusion fällt der Blutdruck wieder auf 75 mm Hg. Auch jetzt ist die Wirkung von M. A. stärker als während der Dauerinfusion von Adrenalin. Im Anschluß an diese verschiedenen Injektionen von M. A. läßt sich der Blutdruck auch durch Infusion hoher Adrenalindosen (89,2 γ/Min.) nur kurze Zeit bis auf 100 mm Hg bringen und sinkt dann trotz weiterer Infusion stetig langsam bis auf 40 mm Hg ab. Doch besteht auch bei der M. A. wahrscheinlich die gleiche Abhängigkeit der Wirkungsintensität von der Blutdruckhöhe, wie Abb. 6 zeigt, bei der kein Adrenalin infundiert wurde und der Blutdruck

sich nach der ersten Reihe von M. A.-Injektionen spontan auf ein Niveau von 100—120 mm Hg eingestellt hatte.

Die Werte der Dosiswirkungskurve liegen bei dem Ausgangsblutdruck von 100—120 mm Hg alle niedriger als die Werte der Blutdrucksenkung bei 130—140 mm Hg Ausgangshöhe.

Mit dem Irenal stellten wir einige orientierende Versuche an. Es zeigte sich, daß es nicht möglich war, ohne Adrenalin eine Dosiswirkungskurve bei gleichbleibender Blutdruckhöhe festzulegen. Nach mehrfachen Injektionen von Irenal, besonders in höheren Dosen (über 20 mg/Tier), sank der Blutdruck fortlaufend weiter ab. Die Intensität der Blutdrucksenkung der verschiedenen Dosen konnte also nicht verglichen werden.

Es bestände die Möglichkeit, durch entsprechende Adrenalininfusion den nach wiederholten Injektionen langsam absinkenden Blutdruck immer wieder auf die alte Höhe zu bringen und dann eine Dosiswirkungskurve festzulegen. Die uns zur Verfügung stehende kleine Menge des Irenals reichte dazu leider nicht aus.

Dagegen war es möglich, die Abhängigkeit der Wirkungsintensität gleicher Dosen von der Ausgangshöhe des Blutdruckes in zwei Versuchen auch bei diesem Stoff einwandfrei nachzuweisen, da durch Adrenalindauerinfusion die gewünschten Blutdruckhöhen ohne Schwierigkeit eingestellt werden konnten. In der Tabelle 1 sind die aus dem einen Versuch gewonnenen Daten wiedergegeben. Die graphische Darstellung der in der Tabelle enthaltenen Werte zeigt, daß sie sich sehr eng um eine Schwerpunktsgrade gruppieren. Die Werte des zweiten Versuchs streuen etwas stärker, doch ist auch dabei ohne Zwang die Lage der Schwerpunktsgeraden festzulegen.

Tabelle 1. Wirkungsintensität einer Dosis von 28 mg Irenal/Tier bei verschiedener Blutdrucksausgangshöhe.

Blutdruck, Ausgangshöhe mm Hg	Intensität der Blutdrucksenkung mm Hg	Blutdruck, Ausgangshöhe mm Hg	Intensität der Blutdrucksenkung mm Hg
170	106	135	75
155	94	110	58
142	87	95	43
135	81	85*	20

* Vor Adrenalininfusion.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Wie die Ausführungen klar zeigen, lassen sich die Besonderheiten der blutdrucksenkenden Wirkung des A. Ch. auch bei anderen Stoffen, dem Papaverin und zum Teil auch der M. A. und dem Irenal finden. Die genannten Eigentümlichkeiten der A. Ch.-Wirkung erklärt Zinnitz mit dem Potentialstoffcharakter dieser Substanz. Nach unseren Befunden ergibt

sich nun die Frage: Handelt es sich beim Papaverin, bei der M. A. und dem Irenal ebenfalls um Potentialstoffe, oder sind die Befunde außerhalb der Potentialtheorie zu erklären? Wir möchten das letztere annehmen. Die Dosiswirkungskurve z. B. ist sehr wahrscheinlich durch das Auftreten von Regulationsmechanismen im Kreislaufgeschehen bedingt, die erst bei einer starken Senkung des Blutdruckes vermehrt gegenregulatorisch eingreifen.

Bei der Betrachtung der Dosiswirkungskurven ist folgende Tatsache auffällig, die sich ebenso wie aus den Abb. 3 und 6 auch bei unseren vielfachen entsprechenden Kurven vom A. Ch. zeigte und die nur ein anderer Ausdruck für die Tatsache ist, daß die Dosiswirkungskurve Exponentialcharakter hat. Der Blutdruck sinkt auch bei starker Steigerung der Dosis nicht unter ein bestimmtes Niveau. Dieses ist zwar von Tier zu Tier etwas verschieden hoch und vielleicht abhängig von dem normalen Blutdruck des Tieres. Diese mit so großer Hartnäckigkeit aufrechterhaltene Blutdruckhöhe liegt bei etwa 60—80 mm Hg. Bei diesem Druck scheinen die Kreislaufregulationsmechanismen verstärkt in Tätigkeit zu treten, um die bei noch weiterem Absinken des Blutdruckes wahrscheinlich eintretende Mangeldurchblutung lebenswichtiger Organe zu verhindern. Sie wird erst unterschritten, wenn zu der rein blutdrucksenkenden Wirkung noch Irregularitäten der Herzaktion hinzukommen. Die Dosis, die zu solchen zusätzlichen Herzwirkungen führt, liegt für die verschiedenen Stoffe verschieden hoch. Beim Papaverin liegt sie sehr nahe der „oberen Grenzwirkungsmenge". Beim A. Ch. dagegen liegt sie für die Katze sehr viel höher. In unseren Versuchen war die obere Grenzwirkungsmenge etwa 0,04—0,06 γ, während erst nach 6,0 γ/Tier Unregelmäßigkeiten in der Herzschlagfolge auftraten.

Ein ähnliches Verhalten zeigt die Kreislaufregulierung, wenn der Blutdruck durch Adrenalininfusion auf verschiedene Höhen eingestellt wird und man dann jeweils die gleiche A. Ch.-Dosis injiziert. Die Abhängigkeit der Blutdrucksenkung von der Ausgangshöhe wird durch eine Gerade, die gegen die X-Achse (= Blutdruckausgangshöhe) geneigt ist, dargestellt. Dies bedeutet, daß der Blutdruck durch die A.-Ch.-Injektion jedesmal auf dasselbe Niveau herabgedrückt wird. Dieses Niveau ist nun wieder das gleiche wie bei der Aufstellung der Dosiswirkungskurve, nämlich um 70 mm Hg.

Beim A. Ch. mag als Ursache für die vorhandene geringere Wirksamkeit der höheren Dosen noch hinzukommen, daß von den injizierten höheren Dosen auch ein relativ größerer Anteil auf dem Wege von der Injektionsstelle zum Wirkungsort durch die Blutesterase zerstört wird. Ein solcher Vorgang ist beim A. Ch. durchaus wahrscheinlich. Ein weiterer Hinweis darauf, daß die in den vorstehenden Befunden festgestellten Beziehungen zwischen Dosis, Wirkung und Blutdruckausgangshöhe ihre Erklärung außerhalb der Potentialtheorie finden müßten, scheint uns durch folgende

Überlegung gegeben: Wenn auch für das A. Ch. ein Wirkungsmechanismus im Sinne der Potentialtheorie zutreffen könnte, weil die Dauerproduktion von A. Ch. an den Nervenendigungen erwiesen ist, lassen sich diese Vorstellungen auf die Befunde besonders beim Papaverin und Irenal nicht übertragen. Für das Papaverin und Irenal als körperfremde Stoffe kann bei verschiedenen Blutdruckhöhen kein verschieden hohes Potential im Körper bestehen und somit auch kein mehr oder weniger hohes Potential durch die gleiche Dosis um relativ verschiedene Beträge verändert werden.

Weiter kann für die „Überwindung eines höheren oder niedrigeren Potentials" keine kürzere oder längere Zeit (Latenzzeit) gebraucht werden. Die zahlenmäßigen Beziehungen der blutdrucksenkenden Wirkung des Papaverins und Irenals müssen also außerhalb der Potentialtheorie erklärt werden, wenn man nicht annehmen will, daß die Blutdrucksenkung nach Papaverin und Irenal indirekt durch Freisetzen von A. Ch. zustande kommt. Dafür liegt aber bisher keine Veranlassung vor. Wenn nun bei der blutdrucksenkenden Wirkung des Papaverins und Irenals genau die gleichen Eigentümlichkeiten der zahlenmäßigen Beziehungen wie beim A. Ch. bestehen, so wird es durch diese Tatsache wahrscheinlich, daß auch beim A. Ch. nicht die zunächst sehr einfach und klar aussehenden Vorstellungen von Zinnitz, sondern kreislaufregulatorische Vorgänge den Mechanismus der blutdrucksenkenden Wirkung des A. Ch. bestimmen. Wir möchten dies um so mehr annehmen, als wir in der folgenden Mitteilung beweisen konnten, daß für die Latenzzeit der A. Ch.-Wirkung nicht die „Überwindung eines mehr oder weniger hohen Potentials", sondern Kreislauffaktoren die entscheidende Rolle spielen.

Zusammenfassung.

Die bisher für den sog. Potentialstoff A. Ch. als charakteristisch angesehenen Beziehungen zwischen Dosis, Wirkungsintensität, Latenzzeit und Blutdruckausgangshöhe werden ebenso beim Papaverin und zum Teil auch bei der Muskeladenylsäure und dem Irenal gefunden. Die Befunde machen es wahrscheinlich, daß die obengenannten Beziehungen nicht für Potentialstoffe charakteristisch sind.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Münster
(Direktor: Prof. Dr. L. Lendle.)

Zum Wirkungsmechanismus des Acetylcholins.

II. Mitteilung.

Von

H. Genuit und **G. Mußgnug.**

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 11. März 1943.)

Die Blutdrucksenkung ist die konstanteste Kreislaufwirkung des Acetylcholins (A. Ch.). Gremels[1] und seine Mitarbeiter leiteten an verschiedenen Charakteristika der A. Ch.-Blutdrucksenkung die Theorie des Potentialwirkungsmechanismus dieses körpereigenen Wirkstoffes ab.

Die Abhängigkeit der Latenzzeit von der Blutdruckausgangshöhe als ein typisches Merkmal der A. Ch.-Kreislaufwirkung konnten wir in den vorhergehenden Versuchen[2] im Gegensatz zu den Befunden von Zinnitz[3] am Blutdruck der Katze nicht reproduzieren. Die wechselnde Höhe des arteriellen Blutdruckes wird nach den Vorstellungen der Potentialtheorie nach den Ergebnissen von Gremels und Mitarbeitern durch ein verschieden hohes A. Ch.- und ein dazu reziprokes Adrenalinpotential bestimmt. Die Latenzzeit der A. Ch.-Blutdrucksenkung umfaßt nun die Zeitspanne, die das zusätzlich injizierte A. Ch. zur wirksamen Steigerung des vorhandenen A. Ch.-Potentials benötigt. Die Latenzzeit erreicht nach Zinnitz also bei niedrigem Blutdruck und hohem A. Ch.-Potential die größten Werte.

Uns fiel bei dieser Deutung auf, daß die Kreislauffaktoren und die Wirkung der Blutesterase zwar in einem Satz kurz erwähnt, aber anscheinend als ziemlich nebensächlich betrachtet wurden. Gerade die Kreislauffaktoren schienen uns aber von besonderer Bedeutung zu sein. Die „Überwindung des vorhandenen A. Ch.-Potentials" konnte ja erst dann beginnen, wenn das injizierte A. Ch. den Ort, an dem dieses für die Blutdruckhöhe maßgebende A. Ch.-Potential besteht — also den Wirkungsort — erreicht hat. Dieser Wirkungsort liegt nicht so sicher fest, wie man zunächst annehmen möchte. Die allgemeine Ansicht geht nach Versuchen von Dale[4], Dale und Richards[5], Hunt[6], Hirose und Schilf[7] u. a.

---

[1] Gremels: Ergebn. Physiol. **42**, 53 (1938). — [2] Genuit u. Kübel: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **202**, 110 (1943). — [3] Zinnitz: Ebenda **188**, 328 (1938). — [4] Dale: J. Pharmacol. (Am.) **6**, 147 (1914(. — [5] Dale u. Richards: J. of Physiol. **52**, 110 (1918). — [6] Hunt: Amer. J. Physiol. **45**, 197 (1918). — [7] Hirose u. Schilf: Pflügers Arch. **228**, 731 (1931).

dahin, daß das A. Ch. durch Erweiterung der Arteriolen eine Blutdrucksenkung bewirkt.

In neuerer Zeit hat jedoch Gotsev[8] darauf hingewiesen, daß bei A. Ch. und einer Reihe anderer kreislaufwirksamer Pharmaka das Wesentliche ihre Herzwirkung sei. Zu diesem Schluß berechtigten Gotsev seine Latenzzeitmessungen bei A. Ch.-Injektionen an verschiedenen Stellen des Blutkreislaufs. Nach seinen Ergebnissen war die Latenzzeit bei intravenöser Injektion am kürzesten. Injektion in eine periphere Arterie verlängerte die Latenzzeit, die ihre größten Werte bei Gabe in die Aorta thoracica zeigte. Durch gleichzeitige Aufzeichnung der Gefäßreaktion in verschiedenen Gebieten erhärtete Gotsev in seinen Versuchen die Beobachtung der Herzwirkung verschiedener Kreislaufmittel. Die Latenzzeit geht also nach diesen Ergebnissen der Kreislaufzeit parallel.

Die Kreislaufzeit ist nach Kisch[9] die kürzeste Zeit, die ein Blutkörperchen braucht, um von einer bestimmten Stelle des Kreislaufs zu einer bestimmten anderen Stelle zu gelangen. In unserem Falle wäre sie zu definieren als die kürzeste Zeit, die das injizierte A. Ch. braucht, um vom Ort der Injektion bis zum Wirkungsort zu gelangen. Es ergab sich für unsere Versuche demnach folgende Fragestellung: Ist die Latenzzeit der A. Ch.-Blutdrucksenkung identisch mit der Transportzeit (bezeichnet als Kreislaufzeit) von der Injektionsstelle bis zum Wirkungsort, oder besteht zwischen beiden eine Differenz, d. h. vergeht von dem Moment, in dem das A. Ch. am Wirkungsort eintrifft, bis zum Beginn der Blutdrucksenkung noch eine Zeitspanne, die nach den Befunden von Zinnitz für den Potentialwirkungsmechanismus des A. Ch. sprechen würde?

Methodik.

Die für unsere Versuche geeignetste Anordnung zur Kreislaufzeitbestimmung war die von Stewart[10] angegebene Methode in der Modifikation von Romm[11]. Nach diesen Autoren werden dem Versuchstier einige ccm einer 2—10%igen NaCl-Lösung in eine entsprechende Stelle des Blutkreislaufes injiziert. Die durch die hypertonische Salzlösung erzeugte Änderung des elektrischen Widerstandes wird beim Durchgang durch die A. carotis communis mit einem Spiegelgalvanometer oder einem Kapillarelektrometer in Brückenschaltung optisch registriert. Vorversuche ergaben, daß der höhere Kochsalzgehalt der A. Ch.-Lösung keinen Einfluß auf die A. Ch.-Wirkung ausübt. Die konzentrierte NaCl.-Lösung allein ändert den Blutdruck ebenfalls nicht. Es war also möglich, auf einer Kurve gleichzeitig die A. Ch.-Latenzzeit am Blutdruck und die Kreislaufzeit zu registrieren.

---

[8] Gotsev: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 26 (1940). — [9] Kisch: Handb. norm. u. path. Physiol. VII/2, S. 1206. — [10] Steward: Zitiert nach Romm. — [11] Romm: Pflügers Arch. **202**, 14 (1924).

Wie schon von Romm beschrieben, ändert sich der Widerstand in der Arterie (Carotis) synchron mit der Änderung der Blutdruckhöhe. Wir sehen Schwankungen bei jeder Herzaktion, jeder Atmungsschwankung und bei Blutdrucksenkung. Die Ausschläge bei Blutdrucksenkung sind so groß, daß der Lichtzeiger bei der erforderlichen empfindlichen Einstellung meist aus der Skala herausgetragen wird. Die Kreislaufzeit kann also nur dann gleichzeitig mit der Blutdrucksenkung registriert werden, wenn sie kürzer als die Latenzzeit der Blutdrucksenkung ist. Dies ist der Fall bei Injektion in die V. jugularis und die Pulmonalvene. Bei Injektion in die Brustaorta ist die A.Ch.-Latenzzeit bei den meisten Tieren kürzer als die Kreislaufzeit. In diesen Fällen haben wir deshalb die Kreislaufzeit unmittelbar im Anschluß an die A.Ch.-Blutdrucksenkung gemessen, sobald der Blutdruck seine Ausgangshöhe wieder erreicht hatte. Wir achteten durch geeignete Dosierung der hochprozentigen Salzlösung darauf, daß die Widerstandsänderung in der Arterie groß genug war, um den Beginn der Kreislaufzeit genau bestimmen zu können.

Als Elektroden benutzten wir unpolarisierbare Tonstiefelelektroden mit einem amalgamierten Zinkstab in gesättigter Zinksulfatlösung. Sie wurden an der re. A. carotis communis angelegt. Die Tonstiefel waren nach der Vorschrift von Romm hakenförmig modelliert. Unter das Gefäß wurde zur Isolierung ein rechteckiges Stückchen dünnen Gummis gelegt und mit vier an seinen Enden angeknüpften Fäden zu beiden Seiten des Gefäßes hochgeschlagen. Das Gummistückchen hob gleichzeitig das Gefäß und die Elektroden ein wenig von der Halsmuskulatur ab. Dadurch vermieden wir eine Verlagerung der Elektroden durch Bewegungen des Tieres und Nebenschlüsse durch Flüssigkeitsansammlung zwischen den Tonstiefeln. Der Widerstand der Elektroden zusammen mit dem zwischen ihnen liegenden Gefäßstück betrug etwa 2000 –4000 Ohm. Als Stromquelle diente ein 2-Volt-Akku.

Der Zeitpunkt, in dem die konzentrierte Salzlösung in der Carotis erscheint, ist praktisch identisch mit der Ankunft des A. Ch. in den Coronarien. Nach Untersuchungen von Voelker[12] können für beide Stellen nur zeitliche Unterschiede von etwa 0,2 Sek. bestehen, die bei Latenzzeiten in einer Größenordnung von 3—10 Sek. zu vernachlässigen sind.

Als Injektionsstellen wählten wir die Aorta thoracica (i. a. II), die V. jugularis ext. links (i. v.) und eine Pulmonalvene rechts (i. p. v.). Die Injektionen in die Brustaorta erfolgten durch eine 25 cm lange Kanüle, die durch die linke Arteria carotis oder durch die A. axillaris eingeführt wurde. Bei einem Teil der Versuche legten wir diese Kanüle auch in den Anfangsteil der Aorta ascendens unmittelbar vor den Abgang der Coronarien (i. a. I). Die Sektion bestätigte uns am Ende des Versuchs die richtige Lage dieser Kanüle. Um die Kanüle in die V. pulmonalis einbinden zu können, mußte eine Thorakotomie vorgenommen und die Atmung künstlich aufrechterhalten werden. Sämtliche Kanülen hatten einen toten Raum von 0,2 ccm. Erst nach Abklingen der Wirkung wurde mit 0,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung nachgespült. Die erforderlichen Blutdruckhöhen stellten wir mit Adrenalindauerinfusion ein.

Die Blutdruckschreibung wurde in den meisten Versuchen mit zwei Membranmanometern durchgeführt, die an die rechte A. femoralis an-

[12] Voelker: Z. exper. Med. **96**, 482 (1935).

geschlossen waren. Das erste Membranmanometer hatte eine große Empfindlichkeit, um den Beginn der Blutdrucksenkung auch bei den relativ kleinen Senkungen bei niedriger Blutdruckhöhe genau bestimmen zu können. Es wurde für die einzelnen Messungen stets neu eingestellt. Das zweite, unempfindlichere Manometer schrieb den Ausgangsblutdruck nach einer Eichung für den Bereich von 20—200 mm Hg. Zur Zeitschreibung verwendeten wir eine Jacquetsche Uhr.

Versuchstiere waren Katzen und Hunde. Als Narkoticum benutzten wir bei den Katzen Chloralose in einer Dosierung von 70—90 mg/kg. Die Chloralose wurde etwa 1%ig bei 40° C in physiologischer Kochsalzlösung gelöst und den Tieren intramuskulär injiziert. Für die Hundeversuche wählten wir die Morphin-Pernoctonnarkose nach Rein und Schneider, weil die Hunde in Chloralosenarkose nicht ruhig genug liegen.

Das verwendete A. Ch. war das Chlorid der Firma Hoffmann-La Roche*.

Versuchsergebnisse.

Nach den Ergebnissen von Gotsev sollte die A. Ch.-Blutdrucksenkung bei i. v.-Injektion am kürzesten und bei Gabe in die Aorta thoracica am längsten sein. Diese Befunde ließen sich in unseren 4 Hundeversuchen nur einmal reproduzieren. Gerade hier aber waren die Beziehungen zwischen Kreislauf- und Latenzzeit besonders klar.

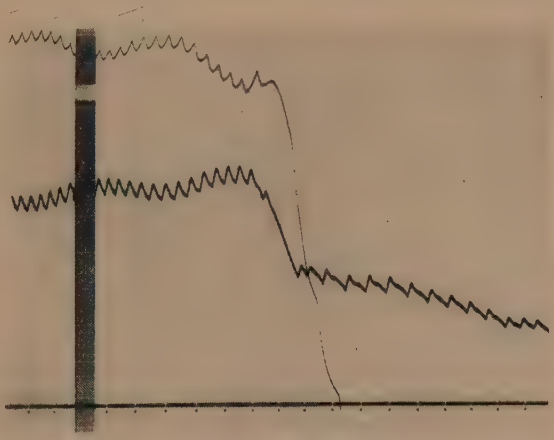


Abb. 1. Versuch am 6. Oktober 1942; Hund 11,2 kg, Morphin 4 mg/kg subcutan; Pernocton 30 mg/kg i. m. i. v.-Injektion, A. Ch. 1,0 mg NaCl 10% ad 3,0.

In Abb. 1 und 2 sind die Ergebnisse dieses Versuches wiedergegeben. Abb. 1 zeigt die Kreislauf- und Latenzzeit nach einer intravenösen Gabe von 1,0 mg A. Ch. in 3 ccm 10%iger Kochsalzlösung. Das Absinken der Galvanometerkurve (lichtschwächere Kurve) durch Widerstandsänderung in der Carotis fällt mit dem Beginn der Blutdrucksenkung zeitlich genau zusammen. Die Latenz- und Kreislaufzeit beträgt 6,3 bzw. 6,4 Sek. Diese quantitative Übereinstimmung läßt erkennen, daß die Blutdrucksenkung sofort mit dem Einströmen des A. Ch. in die Coronarien beginnt.

* Für die Überlassung von Versuchsmaterial danken wir der Herstellerfirma auch an dieser Stelle.

Bei dem auf Abb. 2 wiedergegebenen Versuch wurden demselben Tier 0,5 mg A. Ch. in 1,5 ccm 10%iger Kochsalzlösung in die Pulmonalvene eingespritzt. Auch hier sind die Kreislauf- und Latenzzeit fast identisch, obwohl beide absolut nur 1,9 bzw. 2,2 Sek. betragen, d. h. etwa ein Drittel der Werte bei der i. v.-Injektion.

Bei dem hier beschriebenen Reaktionstyp steht die Herzwirkung des A. Ch. im Vordergrund. Die am Beginn der Blutdrucksenkung auftretende Pulsverlangsamung erhärtet diese Annahme. Sie nimmt im weiteren Verlauf der Blutdrucksenkung wieder ab. Auch die auf Abb. 2 sichtbaren Unregelmäßigkeiten der Herzschlagfolge sprechen dafür, daß zumindestens für den Beginn der Blutdrucksenkung eine A. Ch.-Herzwirkung verantwortlich ist. Ob im weiteren Verlauf der Blutdrucksenkung

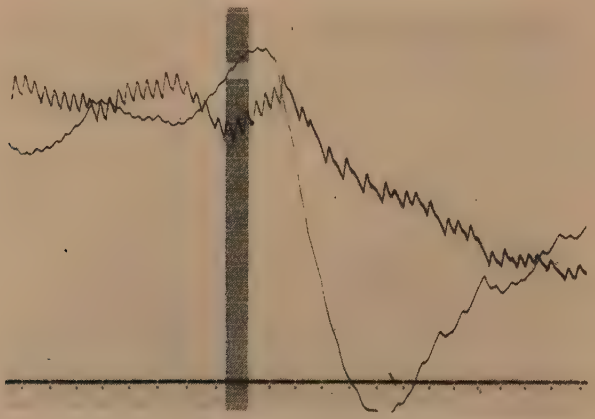


Abb. 2. Versuch am 6. Oktober 1942; Hund 11,2 kg, Morphin 4 mg/kg subcutan; Pernocton 30 mg/kg i. m. i. p. v.-Injektion, A. Ch. 0,5 mg NaCl 10% ad 1,5.

auch noch eine Erweiterung der Arteriolen eine Rolle spielt, kann mit der angewendeten Methodik nicht entschieden werden.

Diese Befunde lassen klar die große Bedeutung der Kreislauffaktoren für die Latenzzeit der A. Ch.-Blutdrucksenkung erkennen. Wenn die Annahme von Zinnitz richtig wäre, daß die Latenzzeit der A. Ch.-Wirkung nur die Zeit für die „Überwindung des bestehenden Potentials" darstellt, so dürfte sich die Latenzzeit bei Injektion an verschiedenen Stellen des Kreislaufs überhaupt nicht oder nur sehr unwesentlich ändern. Hier jedoch beträgt sie bei i. v.-Injektion 300% der Werte bei i. p. v.-Injektion. Genau im gleichen Verhältnis dazu stehen aber die gleichzeitig gemessenen Transportzeiten des A. Ch. von der Injektionsstelle bis zum Wirkungsort.

Bei der überwiegenden Zahl unserer Versuchstiere (Hunde wie Katzen) fanden wir nach A. Ch.-Injektionen einen zweiten Reaktionstyp vor. Hierbei stand eine Gefäßreaktion im Vordergrund des Wirkungsbildes der A. Ch.-Blutdrucksenkung. Die Herzfrequenz war dabei

in den meisten Fällen unbeeinflußt, zum Teil wurde auch Pulsbeschleunigung beobachtet, die vermutlich als Folge des sinkenden Blutdruckes reflektorisch über die Pressorreceptoren ausgelöst wurde. In diesen Versuchen wurde der Blutdruck durch Adrenalindauerinfusionen auf verschiedene Höhen eingestellt und dann die Kreislauf- und Latenzzeit gleichzeitig bestimmt. Abb. 3 zeigt die Werte eines solchen Versuchs am Hund bei intravenöser Injektion. Die Kreislaufzeit ist um einen deutlichen Betrag kleiner als die Latenzzeit. Die Differenz beider Beträge zeigt eine auffallende Konstanz, auch wenn sich die absoluten Werte für beide Zeiten erheblich ändern. Dieser Befund beweist wie alle anderen an Hunden und Katzen erzielten Ergebnisse, daß nie eine Abhängigkeit der Latenzzeit von der Blutdruckausgangshöhe zu finden war. Dagegen ist die Par allelität der Kreislauf- und Latenzzeit völlig eindeutig, obwohl die Kreislaufzeit in diesem Versuch besonders große Unterschiede zeigte, wie sie in den übrigen Versuchen (vgl. Abb. 4) nicht gefunden wurden. Welchen Wert aber die Kreislaufzeit im kleinen Kreislauf auch haben mag, immer ist die Latenzzeit in einer gewissen Streuungsbreite um den gleichen Betrag größer.

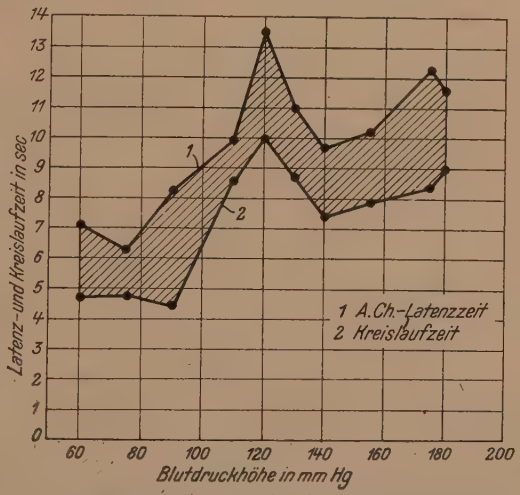


Abb. 3. Versuch am 21. Oktober 1942; Hund 8,0 kg, Morphin 4 mg/kg subcutan; Pernocton 35 mg/kg i. m.

Die weitere Untersuchung beschäftigte sich nun mit der beim zweiten Reaktionstyp beobachteten Differenz von Kreislauf- und Latenzzeit, die ja die Zeit zur Überwindung eines vorhandenen Potentials darstellen konnte.

Zur Klärung dieser Frage wurden Kurven, wie sie Abb. 3 für die i. v.-Injektion zeigt, auch für die i. p. v.-, zum Teil auch am gleichen Tier für die i. a. II-Injektion aufgestellt. Aus Abb. 4 sind die Ergebnisse eines solchen Versuchs für die i. v.- und i. p. v.-Injektion zu ersehen. Auffallend ist wieder die konstante Differenz von Kreislauf- und Latenzzeit.

Diese Differenz ist bei i. v.-Injektion ebenso groß wie bei i. p. v.-Gabe, obwohl sich die absoluten Werte für die Kreislauf- und Latenzzeiten ebenso wie auf Abb. 1 und 2 stark unterscheiden. Andererseits ist die Differenz nun genau so groß wie die Latenzzeiten bei Injektion in die Aorta thoracica. Diese Latenzzeiten sind auf Abb. 4 der Übersichtlichkeit wegen nicht eingezeichnet. Sie sind auf Tabelle 1 zusammengestellt.

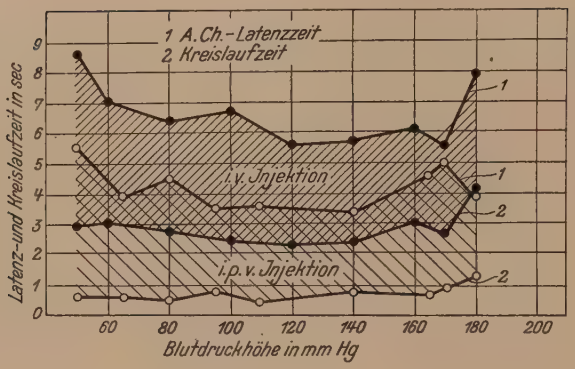


Abb. 4. Versuch am 26. Oktober 1942; Katze 1600 g, Chloralose 75 mg/kg.

Tabelle 1.

Versuch am 26. Oktober 1942. Werte für Latenzzeiten bei Injektion in die Brustaorta aus demselben Versuch, dem Abb. 4 entspricht.

Blutdruck-Ausgangshöhe	Latenzzeit	Blutdruck-Ausgangshöhe	Latenzzeit
80	3,2	155	4,0
115	4,5	180	3,3
130	3,4		

In den Tabellen 2—5 sind die Ergebnisse aus ähnlich angelegten Versuchen an Katzen zu ersehen. In dem Tabelle 2 entsprechenden Versuch

Tabelle 2.

Versuch am 13. August 1942. Katze 2410 g, Chloralose 75 mg/kg. Bei den beiden letzten Messungen bei i. a. II-Injektion war, obwohl hier der Kreislauf länger als die Latenzzeit ist (vgl. dazu S. 122), eine deutlich abgesetzte Widerstandsänderung nach 7,6 bzw. 7,8 Sek. zu erkennen. Weitere Erklärungen zu den Tabellen 2 bis 5 im Text!

i. v.-Injektion					i. a. I-Injektion					i. a. II-Injektion			
A. Ch.-Dosis in γ	Blutdruck-Ausgangshöhe	Latenzzeit in Sek.	Kreislaufzeit in Sek.	Diff. in Sek.	A. Ch.-Dosis in γ	Blutdruck-Ausgangshöhe	Latenzzeit in Sek.	Kreislaufzeit in Sek.	Diff. in Sek.	A. Ch.-Dosis in γ	Blutdruck-Ausgangshöhe	Latenzzeit in Sek.	Kreislaufzeit in Sek.
					0,0015	120	4,8	1,0	**3,8**				
					0,0015	110	4,3	1,1	**3,2**				
0,004	130	6,6	3,5	**3,1**	0,003	125	4,0	0,6	**3,4**				
0,004	130	6,3	3,4	**2,9**									
0,008	130	9,2	3,4	**5,8**	0,007	115	6,3	0,9	**5,4**				
0,008	130	8,1	3,6	**4,5**									
0,016	135	6,8	3,2	**3,6**	0,013	115	3,4	0,7	**2,7**				
0,016	125	9,7	3,4	**6,3**							130		7,1
0,04	135	6,5	3,2	**3,3**	0,033	120	4,0	0,8	**3,2**		130		6,8
0,04	125	6,3	3,4	**2,9**							125		8,0
0,08	130	8,3	3,3	**5,0**	0,067	120	3,8	0,7	**3,1**		125		7,6
0,16	125	5,8	3,3	**3,5**	0,13	120	2,9	0,6	**2,3**	0,16	125	**3,6**	
0,16	125	5,7	3,4	**2,3**						0,16	125	**3,3**	7,6
					0,27	120	2,3	0,8	**1,5**	0,32	130	**3,4**	7,8

Tabelle 3.

Versuch am 30. Oktober 1942; Katze 3350 g, Chloralose 85 mg/kg.

Blutdruck-Ausgangshöhe in mm Hg	i. v.-Injektion			i. p. v.-Injektion			Blutdruck-Ausgangshöhe in mm Hg	i. a. II-Injektion
	Latenzzeit in Sek.	Kreislaufzeit in Sek.	Differenz in Sek.	Latenzzeit in Sek.	Kreislaufzeit in Sek.	Differenz in Sek.		Latenzzeit in Sek.
80	13,1	7,5	**5,6**					
95	7,3	3,1	**4,2**	3,5	0,6	**2,9**	100	**4,0**
120	7,6	3,2	**4,4**	3,0	0,5	**2,5**	120	**4,2**
145	6,9	3,7	**3,2**	4,9	0,8	**4,1**	140	**4,8**
170	7,3	3,6	**3,7**	5,6	1,4	**4,3**	160	**3,8**
190	9,2	4,2	**5,0**				170	**5,4**
195	10,7	4,2	**6,5**					

Tabelle 4.

Versuch am 4. November 1942; Katze 2250 g, Chloralose 75 mg/kg + Urethan 1 g pro Tier.

Blutdruck-Ausgangshöhe in mm Hg	i. v.-Injektion			i. p. v.-Injektion			i. a. II-Injektion
	Latenzzeit in Sek.	Kreislaufzeit in Sek.	Differenz in Sek.	Latenzzeit in Sek.	Kreislaufzeit in Sek.	Differenz in Sek.	Latenzzeit in Sek.
30	12,2	4,6	**7,6**	7,3	1,2	**6,1**	**8,8**
60	12,7	4,6	**8,1**	7,8	0,8	**7,0**	**7,8**
80	11,2	3,8	**7,4**	8,2	1,5	**6,7**	**6,1**
100	11,8	4,0	**7,8**	7,9	1,1	**6,8**	**6,8**
120	11,2	3,6	**7,6**	8,1	1,0	**7,1**	**6,8**
140	9,0	3,4	**5,6**	5,2	0,8	**4,4**	**6,2**

Tabelle 5.

Versuch am 28. Oktober 1942; Katze 2600 g, Chloralose 83 mg/kg.

Blutdruck-Ausgangshöhe in mm Hg	i. v.-Injektion			i. p. v.-Injektion		
	Latenzzeit in Sek.	Kreislaufzeit in Sek.	Differenz in Sek.	Latenzzeit in Sek.	Kreislaufzeit in Sek.	Differenz in Sek.
35	7,9	3,6	**4,3**	3,9	0,5	**3,4**
50	6,0	2,6	**3,4**	3,0	$< 0{,}2$	**3,0**
75	6,5	2,3	**4,2**	3,7	$< 0{,}2$	**3,7**
100	6,0	2,6	**3,4**	4,0	0,3	**3,7**

wurden bei gleichbleibender Blutdruckausgangshöhe verschiedene A. Ch.-Dosen an verschiedenen Stellen des Kreislaufs injiziert. In den anderen Versuchen wurde die A. Ch.-Dosis konstant gehalten und die Blutdruckausgangshöhe durch Adrenalindauerinfusion verändert. Die dabei injizierten A. Ch.-Dosen waren so gewählt, daß sie oberhalb der oberen Grenzwirkungsmenge lagen; sie betrugen 0,2—0,25 γ.

Wie die Tabellen zeigen, hatten alle Versuche die gleichen Ergebnisse.

Zu den Tabellen ist zu bemerken, daß die Kreislaufzeit bei der Injektion an verschiedenen Stellen des Kreislaufs auch verschiedene Werte haben

muß, da immer die Zeit gemessen wurde, die für den Transport des A. Ch. von der Injektionsstelle bis zur rechten A. carotis gebraucht wurde. Der Weg und damit auch die Zeit ist am kürzesten bei Injektion in die Pulmonalvene (i. p. v.), länger bei Injektion in die V. jugularis (i. v.) und am längsten bei Injektion in die Brustaorta (i. a. II). Wie in der Besprechung näher erörtert werden wird, beginnt die Blutdrucksenkung beim zweiten Reaktionstyp dann, wenn das A. Ch. an den peripheren Arteriolen ankommt. Daraus ergibt sich, daß bei i. a. II-Injektion die Kreislaufzeit länger als die Latenzzeit sein muß, weil die Meßstelle für die Kreislaufzeit von der Injektionsstelle aus gesehen hinter den peripheren Gefäßen liegt. Bei i. v.- und i. p. v.-Injektion liegt die Meßstelle zwischen der Injektionsstelle und den peripheren Gefäßen. Die gemessene Kreislaufzeit muß hierbei also kürzer sein als die Latenzzeit der A. Ch.-Wirkung.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Bei dem von uns als ersten Reaktionstyp bezeichneten Wirkungsbild ist eine negativ chronotrope und vielleicht auch negativ inotrope Herzwirkung des A. Ch. für den Beginn der Blutdrucksenkung verantwortlich. Brückner[13] erörtert eine A. Ch.-Herzwirkung durch Hemmung des Sinusknotens dadurch, daß durch das Endokard des rechten Vorhofs A. Ch. dorthin diffundiert. Wir konnten für einen derartigen Wirkungsmechanismus keinen Anhaltspunkt finden, denn bei einer direkten Wirkung auf den Sinusknoten vom Lumen des rechten Vorhofs aus müßte die Latenzzeit bei i. v.-Injektion äußerst klein sein, da das mit A. Ch. beladene Blut im systolischen Kollaps ja augenblicklich in den Vorhof einschießt. Die kürzesten Latenzzeiten erhielten wir jedoch immer bei i. p. v.-Injektion. Dabei gelangt das A. Ch. erst nach Passage des Coronarsystems durch den Sinus coronarius, also später als bei Injektion in die V. jugularis in den rechten Vorhof. Eine Herzwirkung des A. Ch. durch Diffusion vom rechten Vorhof aus zum Sinusknoten kommt also für unsere Versuche nicht in Frage. Es bleibt als andere Möglichkeit, daß die Herzwirkung des A. Ch. dann beginnt, wenn es die Herzmuskelzellen bzw. das Reizleitungssystem über die Coronargefäße erreicht. Wir können somit, wenn auch nur für einen Teil unserer Versuchstiere, die Ergebnisse von Gotsev bestätigen und weiter präzisieren (vgl. die einschränkende Bemerkung auf S. 123).

Der erste Reaktionstyp beweist, daß für die Latenz der A. Ch.-Blutdrucksenkung fast ausschließlich die Kreislaufzeit Bedeutung hat und für die Überwindung eines eventuell vorhandenen Potentials nur Bruchteile von Sekunden übrigbleiben, ganz abgesehen davon, daß sich bei einem Wirkungsmechanismus, wie ihn Zinnitz annimmt, niemals die Latenzzeiten für die einzelnen Injektionsstellen ändern dürften.

[13] Brückner: Arch. internat. Pharmacodynam. 45, 358 (1937).

Auf den ersten Blick nicht so klar lagen die Verhältnisse bei dem zweiten Reaktionstyp, bei dem eine Gefäßwirkung des A. Ch. die Ursache für den Beginn der Blutdrucksenkung ist. Wie aus den Untersuchungen von Romm bekannt ist, ist die Kreislaufzeit im großen Kreislauf (berechnet als Differenz aus Gesamtkreislauf- minus Kreislaufzeit im kleinen Kreislauf) nur wenig größer als im Lungenkreislauf. Voelker fand bei der Katze für die Lungenkreislaufzeit einen Mittelwert von 3,2 Sek. (l. c. S. 490). In einem unserer Versuche fanden wir ebenfalls bei der Katze als Mittelwert aus 11 Einzelbestimmungen 3,4 $\pm$ 0,2 Sek. In dem gleichen Versuch betrug die Gesamtkreislaufzeit aus 6 Einzelbestimmungen 7,4 $\pm$ 0,6 Sek. Als Kreislaufzeit für den großen Kreislauf ergibt sich daraus ein Wert von 4,0 Sek. Dies stimmt mit den oben zitierten Befunden von Romm am Hund bezüglich der Kreislaufzeit im kleinen Kreislauf gut überein. Wie aus Abb. 3 zu ersehen ist, beträgt nun die Differenz zwischen Latenz- und Kreislaufzeit bei i. v.- und i. p. v.-Injektion bzw. die Latenzzeit bei i. a. II-Injektion ebenfalls gerade etwa 4 Sek. Demnach würde der Blutdruck gerade absinken, wenn das A. Ch. im rechten Vorhof ankommt. Eine Wirkung durch Diffusion durch das Endokard kommt aber nach oben besprochenen Befunden für unsere Versuche nicht in Frage. Insbesondere spricht das Ausbleiben der Pulsverlangsamung gegen einen derartigen Wirkungsmechanismus der A. Ch.-Blutdrucksenkung.

Aus dem Vergleich mit der Kreislaufzeit läßt sich leicht errechnen, daß die Blutdrucksenkung immer eine deutliche Zeitspanne später auftrat, als das A. Ch. an den Arteriolen sein mußte. Diese Zeitspanne müßte eventuell im Sinne von Zinnitz als die für die Überwindung eines bestehenden Potentials notwendige Zeit angesehen werden. Die nachfolgenden Überlegungen zeigen aber, daß die Folgerung nur scheinbar richtig ist.

Der große Kreislauf setzt sich aus einer Anzahl von verschieden langen Gefäßgebieten zusammen, denen auch entsprechend lange Kreislaufzeiten zukommen. Das Gefäßgebiet des Kopfes dürfte wohl die kürzeste Kreislaufzeit haben.

Die in unseren Versuchen gemessenen Kreislaufzeiten stellen nun die Zeit dar, die die konz. Salzlösung und damit das A. Ch. benötigt, um auf dem kürzesten Wege von der Injektionsstelle zur A. carotis zu gelangen. Während das A. Ch. das gesamte Gefäßgebiet des Kopfes also schon passiert hat, dürfte es in den längeren Gefäßgebieten (Haut, Splanchnicus) erst gerade an den Arteriolen angekommen sein. Es ist nun unwahrscheinlich, daß gerade das kürzeste Gefäßgebiet auf das A. Ch. mit einer Gefäßerweiterung antwortet, zumal bekannt ist, daß sich die Hirngefäße Pharmaka gegenüber im allgemeinen ziemlich indifferent verhalten.

Die Blutdrucksenkung beginnt also wahrscheinlich erst, wenn das A. Ch. die Arteriolen der Gefäßgebiete mit längerer Kreislaufzeit erreicht.

Hieraus läßt sich auch die Tatsache erklären, daß die Streuung der Latenzzeiten der A. Ch.-Wirkung größer ist als die Streuung der Kreislaufzeiten. Sie besteht einfach in der Annahme, daß von den Gebieten mit verschieden langen Kreislaufzeiten einmal das eine und einmal das andere zuerst auf das A. Ch. anspricht.

Als weitere Frage bleibt noch, welche Zeit vergeht, ehe rein hämodynamisch nach Beginn der Arteriolenerweiterung die in der A. femoralis gemessene Blutdrucksenkung sichtbar wird. Da hierbei höchst wahrscheinlich auch noch eine geringe Zeit vergeht, gewinnt unsere Annahme, daß die Latenzzeit bei i. a. II-Injektion tatsächlich der Zeit des A. Ch.-Transportes von der Injektionsstelle bis zum Wirkungsort entspricht, noch mehr an Wahrscheinlichkeit und die zur Überwindung eines eventuell vorhandenen Potentials verfügbare Zeit wird noch weiter reduziert. Die Blutdrucksenkung beginnt unseres Erachtens sofort, wenn das mit A. Ch. beladene Blut seinen Wirkungsort erreicht hat. Diese Auffassung hat wohl auch von vornherein die größere Wahrscheinlichkeit für sich. Wenn nämlich die Latenzzeit im Sinne von Zinnitz zur Überwindung des A. Ch.-Potentials benötigt würde, ein Vorgang, den man sich nur als kontinuierlich denken könnte, so wäre es gänzlich unverständlich, daß die A. Ch.-Wirkung nach einer gewissen Zeit, in der nichts geschieht, plötzlich scharf einsetzt. Nach unseren Ausführungen ist dieses Wirkungsbild selbstverständlich. Solange das A. Ch. noch in den größeren Gefäßen ist, kann keine Arteriolenerweiterung und damit auch keine Blutdrucksenkung auftreten. Sobald das A. Ch. am Wirkungsort ankommt, wird, vielleicht im Sinne der Potentialtheorie — vielleicht nach einem anderen Wirkungsmechanismus — die Wirkung schlagartig einsetzen.

Einen letzten Beweis dafür, daß die Latenzzeit der A. Ch.-Wirkung bei i. v.-Injektion nicht — oder nur zu einem verschwindend kleinen Bruchteil — zur „Überwindung des vorhandenen A. Ch.-Potentials" nötig ist, liefern Untersuchungen über die Latenzzeit bei Vagusreizung, wie sie z. B. von Gremels[14] angestellt wurden.

Bei elektrischer Vagusreizung wird ja das A. Ch. am Orte der Wirkung selbst freigesetzt und es dürfte, wenn unsere oben angeführten Anschauungen richtig sind, eine im Verhältnis zur Latenzzeit der A. Ch.-Wirkung bei i. v.-Injektion nur sehr kurze Zeit vergehen, bis die Wirkung einsetzt. Dies ist in der Tat der Fall. Findet doch Gremels bei gerade überschwelligen Reizen eine Latenzzeit von durchschnittlich 0,4 Sek. Dabei ist noch zu berücksichtigen, daß ein Teil dieser Zeitspanne durch die Freisetzung des A. Ch. an den Nervenendigungen beansprucht wird.

Aus dem Vorstehenden kann somit der Schluß gezogen werden, daß die Latenzzeit der A. Ch.-Wirkung nicht als Ausdruck des vegetativen Nerventonus im Sinne der Potentialtheorie betrachtet werden kann.

---

[14] Gremels: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 360 (1935).

Zusammenfassung.

Bei der blutdrucksenkenden Wirkung des Acetylcholins lassen sich zwei Reaktionstypen unter den Versuchstieren unterscheiden.

Bei dem 1. Reaktionstyp, den wir nur bei wenigen Tieren fanden, ist für den Wirkungsbeginn eine Herzwirkung maßgebend.

Bei dem 2. Reaktionstyp, der bei der Mehrzahl der Tiere vorlag, ist eine Wirkung auf die Arteriolen für den Beginn der Blutdrucksenkung verantwortlich.

Die Blutdrucksenkung beginnt jeweils in dem Zeitpunkt, in dem das A. Ch. an seinem Wirkungsort ankommt. Die Latenzzeit der A. Ch.-Wirkung ist also gleich der Transportzeit von der Injektionsstelle bis zum Wirkungsort; sie ist nicht im Sinne der Potentialtheorie als Zeit für die Überwindung des peripheren A. Ch.-Potentials aufzufassen.

Aus dem Physiologischen Institut der Universität München.

Über die Wirkung des Strophanthins auf den Blutdruck des gesunden Menschen.

Von

H. Busse* und **A. Struppler.**

Mit 5 Textabbildungen (7 Einzelbilbern).

(Eingegangen am 6. März 1943.)

Seitdem vor etwa 100 Jahren eine blutdrucksteigernde Wirkung der Digitalisglykoside erkannt worden war, wandte sich die Aufmerksamkeit der experimentellen Forschung von der bisherigen ausschließlichen Betrachtung der Herzwirkung nun auch den Einflüssen der Digitaliskörper und ähnlich wirkender Pharmaka auf das Gefäßsystem zu. 1902 erbrachten Gottlieb und Magnus (1) in grundlegenden Versuchen an morphinisierten Hunden den Nachweis der Gefäßwirkung der Digitalis. Sie stellten 1. die aus eröffneten Venen ausfließende Blutmenge fest und bestimmten 2. plethysmographisch das Volumen einzelner Organe. In beiden Versuchen erzielten sie grundsätzlich übereinstimmende Ergebnisse. Nach großen toxischen Dosen sahen sie einerseits einen erheblichen Blutdruckanstieg, andererseits kam es zu einer unmittelbar peripher ausgelösten Gefäßkontraktion im Splanchnicusgebiet. Diese führte zu einem Abströmen des Blutes in die Peripherie, und zwar nach Auffassung der Autoren sowohl infolge einer reflektorisch von den Splanchnicusgefäßen herrührenden aktiven Dilatation als auch infolge einer passiven Dehnung der Haut- und Muskelgefäße. Daß nicht nur bereits toxisch wirkende Dosen einen vasokonstriktorischen Effekt erzielten, sondern auch therapeutische Gaben die Darmgefäße verengerten, ging aus Versuchen von Kasztan (2) für das Strophanthin und Fahrenkamp (3) für das Digitoxin hervor.

Die Arbeiten von Gottlieb und Magnus (1) gaben den Anstoß zu einer umfangreichen, sich in vielen Punkten allerdings widersprechenden Literatur über die Gefäßwirkung der Digitalis, insbesonders über den speziellen Einfluß auf die Gefäße bestimmter Organe und Körperabschnitte.

In neuerer Zeit untersuchten Böger und Diehl (4) das Verhalten des Schlag- und Minutenvolumens unter dem Einfluß der Digitalis-(Strophanthin-)Behandlung nach dem Verfahren von Broemser und Ranke. Wenn es auch beim Menschen nach Strophanthin zu einer ausgedehnten Vasokonstriktion kommen sollte, so hätte sich diese zunächst an einer Änderung des peripheren Widerstandes zu erkennen geben müssen.

* Oberstabsarzt in einer H. San.-Staffel, kommandiert zum Physiologischen Institut.

In der Tat erhielten Böger und Diehl schon bald nach der Strophanthininjektion einen Anstieg des peripheren Widerstandes, während das Schlagvolumen im selben Zeitpunkt unverändert oder sogar bereits abgesunken war. Mit diesem Befund konnten sie eine etwa vermehrte Füllung des Gefäßsystems als Ursache der Widerstandserhöhung ausschließen. Die Ergebnisse von Böger und Diehl (4) sind somit als eine Bestätigung der von Gottlieb und Magnus (1) im Tierexperiment nachgewiesenen, gefäßverengernden Wirkung der Digitalisglykoside zu betrachten.

Die Gefäßwirkung des Strophanthins wird bei Herzgesunden und Herzkranken grundsätzlich nicht unterschiedlich sein. Dagegen ist, wie allgemein bekannt, die Strophanthinwirkung auf das Herz je nachdem verschieden, ob das Herz gesund oder geschädigt ist. Das Problem, in welcher Weise das Strophanthin auf das Herz einwirkt, unterwarf Reichel (5) einer experimentellen Analyse am Froschherzen nach von O. Frank für derartige Untersuchungen aufgestellten Grundsätzen. Seine Versuche führten zu der Feststellung einer doppelten, gleichzeitigen Wirkungsweise des Strophanthins: es übt einerseits beim (in erster Stanniusschen Ligatur) stillstehenden, künstlich gereizten Herzen eine stets positiv inotrope, direkt muskuläre Wirkung auf die kontraktilen Elemente aus. Hierbei bleibt aber im Gegensatz zum ermüdeten beim frischen Herzen das Schlagvolumen gleich groß. Andererseits kommt dem Strophanthin, wie aus Versuchen am spontan schlagenden Herzen erkenntlich gewesen ist, auch eine Wirkung auf den Vagus zu. Infolgedessen stellt nach Reichels Ansicht die jeweils zur Beobachtung kommende inotrope Wirkung des Strophanthins stets den Summationseffekt aus einem vom Vagus beeinflußten und einem am Herzmuskel sich positiv auswirkenden Effekt dar.

Wir haben es uns nun zur Aufgabe gemacht, das Verhalten des arteriellen Blutdrucks unter Strophanthineinwirkung am gesunden Menschen in Erfahrung zu bringen. Durch das von R. Wagner (6) entwickelte Verfahren einer fortlaufenden, unblutigen Blutdruckschreibung am Menschen waren wir in die Lage gesetzt, die schon während der intravenösen Injektion des Strophanthins und der darauffolgenden Minuten einsetzenden Veränderungen des Blutdrucks zu verfolgen. Da es sich, wie bei unserer Fragestellung zu erwarten war, um keine groben Veränderungen der Blutdruckwerte handeln konnte, mußte die sonst übliche, auch während des Versuchs noch so häufig angewandte Blutdruckmessung nach Riva-Rocci versagen. Mit der Riva-Rocci-Methode sind kleine, augenblicklich auftretende Änderungen des Blutdrucks, insbesondere des diastolischen Druckes, nicht wirklich befriedigend zu erfassen. Mit dem Wagnerschen Apparat kann man dagegen den Blutdruck von Puls zu Puls beobachten. Der Apparat registriert den systolischen und diastolischen Blutdruck nicht nur fortlaufend, sondern auch mit der richtigen Amplitudengröße. Ein fortwährend durch die auf der Manschette befestigte Metall-

kapsel fließender Luftstrom kompensiert augenblicklich durch Herstellung entsprechender Luftdrucke in der Kapsel die in der Arteria radialis auftretenden Druckänderungen. Auf diese Weise ist es R. Wagner gelungen, die Gefäßwandspannung an der Meßstelle völlig auszuschalten. Die Arteria radialis verhält sich somit, registriertechnisch gesehen, wie ein zum Zwecke blutiger Druckmessung eröffnetes Gefäß. Aus den mit diesem Verfahren auf einer Rußtrommel erhaltenen Kurven können wir nicht allein die praktisch unverfälschten systolischen und diastolischen Blutdruckwerte und damit die Größe der Amplitude entnehmen, sondern man ersieht zu gleicher Zeit auch die laufenden Änderungen der Pulsfrequenz und des dikroten Nachschlages, der seinerseits einen Hinweis auf die Spannung der Gefäßwand und die Geschwindigkeit der Pulswelle abgibt.

Methodik.

Wir verwandten für unsere Versuche Kombetin (Boehringer), das wir gewöhnlich in der therapeutischen Dosis von 0,25 mg (in zwei Fällen auch in der doppelten Dosis) ohne Traubenzucker in die linke Vena mediana cubiti einspritzten. Die Injektionen wurden an drei gesunden männlichen Versuchspersonen im Alter von 24—32 Jahren bei völliger Körperruhe und im Sitzen vorgenommen. Zwischen den einzelnen Injektionen wurden für jede Versuchsperson mehrere Tage zwischengeschaltet, um Kumulationserscheinungen sicher zu vermeiden. Der arterielle Blutdruck wurde nach dem von R. Wagner (6) angegebenen, oben angedeuteten Verfahren an der rechten Arteria radialis fortlaufend registriert. Vor Beginn des Versuchs haben wir die absoluten Blutdruckwerte nach Riva-Rocci auskultatorisch gemessen und nach diesen die Amplitude der fortlaufenden Blutdruckschreibung in der richtigen Größe eingestellt, entsprechend den auf der Rußtrommel durch einen Kamm nach Eichversuchen geschriebenen Linien. Die Injektion wurde langsam ausgeführt und dauerte durchschnittlich 20—30 Sekunden. Da sich in der Blutdruckkurve fast regelmäßig durch den Kanüleneinstich eine Schmerzreaktion in Form einer kurzen Anstiegswelle abzeichnete, wurde stets die Kanülenspitze so lange in der Vene liegengelassen und mit der Einspritzung gewartet, bis der Blutdruck nach der Welle wieder seinen Ausgangswert erreicht hatte.

Es gaben nicht immer gleich die ersten Versuche mit der neuen Blutdruckregistrierung völlig klare Bilder. Zu Anfang können von Seiten der Versuchsperson störende Einflüsse, wie sie z. B. durch Unlustgefühle beim Einstechen der Kanüle usw. hervorgerufen werden und wie sie auf eine individuell wechselnde Reaktion der jeweiligen Versuchsperson auf die verschiedenen Versuchsmaßnahmen zurückzuführen sind, das eigentliche Bild beeinflussen oder überdecken. Die Versuchsperson soll nach Möglichkeit geistig und körperlich völlig entspannt den Versuch an sich geschehen lassen. Schon die von unangenehmen Sensationen begleitete Erwartung

des Einstichs gibt der Blutdruckkurve durch das Auftreten von Traube-Hering-Wellen ein unruhiges Aussehen, worauf R. Wagner (6) früher des öfteren hingewiesen hat. Auch ein zu lebhaftes Interesse der Versuchsperson am Versuchsergebnis kann dieses Erwartungsgefühl erheblich steigern und die Traube-Hering-Wellen um so deutlicher zur Ausbildung kommen lassen. Außerdem muß die Versuchsperson den Arm, an dem die Manschette angelegt ist, vor allem auch Hand und Finger, ganz ruhig halten, und besonders in dem Moment, wenn am anderen Arm injiziert wird. Wenn man nach einigen wenigen Versuchen ohne jede Schwierigkeit die eventuellen Störungen abgestellt hat, erhält man ein einwandfreies Bild einer fortlaufend registrierten Blutdruckkurve, wie sie sich unter Strophanthineinfluß darstellt.

Ergebnisse.

Unsere Strophanthinversuche haben in den Grundzügen richtungsmäßig zu einem befriedigend übereinstimmenden Ergebnis geführt, wenn

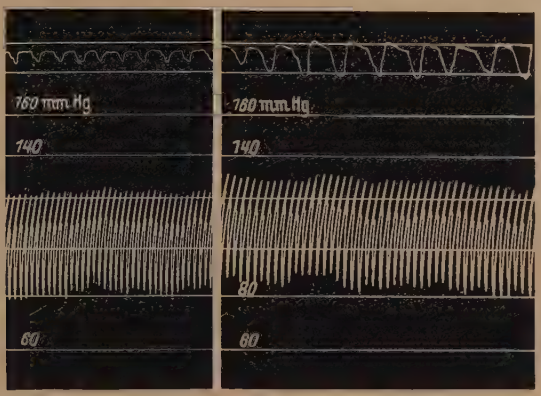
Abb. 1. Blutdruckkurve nach Strophanthininjektion. Oben: Kurve der Atemfrequenz; unten: Blutdruckkurve (1 cm = 18,2 Sek.).

auch die Kurven nicht in allen Einzelheiten sich völlig gleichen. Eine individuelle Streuung war von vornherein auch zu erwarten. Wir bringen daher aus unseren Versuchsreihen einige Ausschnitte zur Abbildung, an denen besonders charakteristische Veränderungen der Blutdruckkurve demonstriert werden sollen.

In Abb. 1 wird eine Blutdruckkurve aus einem Versuch wiedergegeben, an dem man die Strophanthinwirkung vor, während und bis etwa 3 Minuten nach der Injektion verfolgen kann. Der Ruhewert des Blutdrucks beträgt im Durchschnitt etwa 130/87 mm Hg. Kurz nach dem Einstich in die Vene überhöht eine kleine Welle das Niveau des Blutdruckbandes, die besonders deutlich an den diastolischen Werten zu erkennen ist. Hierin kommt die Schmerzreaktion zum Ausdruck. Auch an der Kurve der Atemfrequenz zeichnet sich in den oberflächlichen Atemzügen der Einstich-effekt deutlich ab, bis dann wieder mit einem besonders tiefen Atemzug die gewöhnliche Atmung einsetzt. Die tiefe Einatmung wirkt ihrerseits auf die systolischen Blutdruckwerte ein, die in einem deutlichen Bogen sich um etwa 12 mm Hg senken. Die Blutdruckkurve erreicht schnell

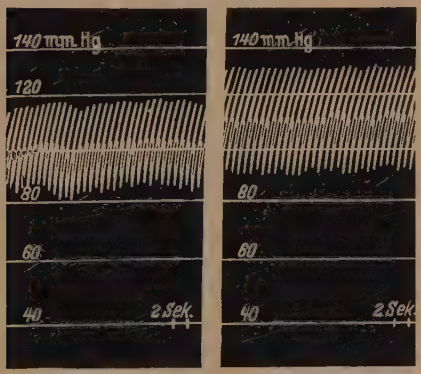
wieder ihren Ausgangswert, steigt dann ganz allmählich an und gewinnt etwa 60 Sekunden nach dem Ende der Injektion ihren Höchstwert. Es ist nun bemerkenswert, daß von dem wiedergewonnenen Ausgangswert an die diastolischen Druckwerte etwas steiler ansteigen (um 10 mm Hg) als die systolischen (um 7 mm Hg). Im weiteren Verlauf findet die Blutdruckkurve allerdings unter nochmaligem leichten Anstieg wieder zu ihrem Ruhewert zurück. Die Größe der Amplitude ändert sich in diesem Beispiel zwar charakteristisch, aber nur in einem geringen Ausmaß. Wenn man von der durch die tiefe Einatmung bedingten Verkleinerung der Amplitude während der Injektion absieht, kann man erst zum Zeitpunkt des Injektionsendes eine Verringerung der Amplitudengröße feststellen. Auch bis 40 Sekunden nach dem Injektionsende ist die Amplitude noch wenig kleiner, als dem Ausgangswert entspricht. In der Zeit von 60—120 Sekunden post injektionem übersteigt die Amplitude den Ausgangswert und nimmt im weiteren Verlauf wieder etwas ab. Der dikrote Nachschlag zeigt in diesem Beispiel keine charakteristische Veränderung. In allen Kurven unserer Versuche aber, in denen die Dikrotie sich im Verlauf der Strophanthinwirkung veränderte, konnte man eine geringere Ausprägung der dikroten Zacke erkennen. — Die Pulsfrequenz bietet in allen Versuchen eine stets gleiche Reaktion auf Strophanthin dar. Unmittelbar unter der Injektion ist der Puls im ganzen etwas schneller als vorher. Auch hier macht sich die Einstichreaktion bemerkbar. Während der Blutdruck sich schon wieder auf dem Ausgangsniveau befindet, ist die Herzfrequenz noch etwas erhöht. Bald nach der Injektion setzt die bradykarde Wirkung des Strophanthins ein und erreicht in Abb. 1 60—100 Sekunden nach der Injektion ihren Höhepunkt, indem die Frequenz von ursprünglich 78 Schlägen (bzw. 81 während der Injektion) auf 72 heruntergeht. Auch weiterhin dauert die Pulsfrequenzabnahme noch lange an. Die Pulsfrequenz war bei Versuchsende noch immer niedriger als vor der Injektion. Auch aus der Atemkurve der Abb. 1 ist eine Frequenzabnahme zu ersehen, die etwa bis 1 Minute nach der Injektion mit 12—13 Atemzügen am größten ist und bis zum Versuchsende noch etwas anhält. Abb. 2 und 3 sind kurze Ausschnitte aus zwei verschiedenen Strophanthinversuchen, in denen einmal die Verlangsamung der Puls- und Atemfrequenz, andermal die Vergrößerung der Amplitude jeweils im Wirkungsmaximum charakteristisch zur Darstellung kommen. Die Kurven auf der linken Seite entsprechen den Ruhewerten. In Abb. 2 hat die Pulsfrequenz von 74 Schlägen in der Minute auf 61 (— 17,5 %) abgenommen. Die Atemfrequenz ist von 19 Atemzügen in der Minute auf 13,4 (— 29,5 %) abgesunken. Eine besonders große Zunahme der Amplitude geht aus Abb. 3 hervor, ohne daß eine nennenswerte Pulsfrequenzabnahme bestünde, wie umgekehrt in Abb. 2 die deutliche Bradykardie ohne wesentliche Amplitudenvergrößerung auftritt. Die Abb. 4 stellt eine Blutdruckkurve aus einem Versuch dar, in dem die doppelte Menge Strophanthin (0,5 mg)

injiziert wurde. Schon frühzeitig steigt noch unter der Injektion der Blutdruck an und erreicht bereits 10—15 Sekunden post injektionem sein



Vor und nach Strophanthininjektion (1 cm = 6,6 Sek.).

Abb. 2. Verlangsamung der Pulsfrequenz.



Vor und nach Strophanthininjektion (1 cm = 6,83 Sek.).

Abb. 3. Vergrößerung der Blutdruckamplitude.

Abb. 4. Blutdruckkurve nach Injektion von 0,5 mg Strophanthin (1 cm = 11,6 Sek.).

Maximum (systolisch von 118—140, diastolisch von 78—100). Schon in der 40. Sekunde post injektionem (in der Abb. 4 nicht mehr dargestellt) vergrößert sich die Amplitude in geringem Maße. Auch die Pulsfrequenz verändert sich rascher als unter der normalen Injektion von 0,25 mg Strophanthin. Sie fällt während der Injektion von 69 auf 57 Schläge pro Minute und bleibt bei dieser Zahl bis etwa 80 Sekunden nach der Injektion.

Die Abb. 2—4 lassen hinsichtlich der Dikrotie eine gleichartige Veränderung erkennen. Die Größe des dikroten Nachschlages und sein Sitz auf dem abfallenden Schenkel der pulsatorischen Schwankungen ändern sich gegenüber den Ruhewerten in dem Sinne, daß sich einmal der Nachschlag verkleinert und andermal nach den systolischen Spitzen zu höher hinaufrückt.

An allen drei Versuchspersonen stellten wir Leerversuche mit Ringerlösung an. Außer der durch den Einstichschmerz bedingten Anstiegswelle waren keine Besonderheiten an den aus der Blutdruckkurve zu entnehmenden Kreislaufgrößen zu erkennen. Wir können daher auf eine Wiedergabe der hierbei gewonnenen Kurven verzichten. Blutdruck, Puls- und Atemfrequenz blieben bei den gleichen Werten, wie sie vor der Injektion bestanden haben.

Besprechung der Ergebnisse.

Die Veränderungen der systolischen und diastolischen Blutdruckwerte, der Amplitude und der Pulsfrequenz, wie sie in unseren Versuchen unter der Einwirkung von Strophanthin zustande kommen, haben wir der besseren Übersicht wegen in einem Diagramm (Abb. 5) dargestellt. Die Werte stammen von einem Versuch, der die Strophanthinwirkung besonders charakteristisch erkennen läßt. Auf der Abszisse sind die zeitlichen Abstände im Verlauf des Versuchs eingetragen, auf der Ordinate die absoluten Werte des systolischen und diastolischen Blutdrucks, der Amplitude und der Pulsfrequenz.

Schon während der Injektion steigt der Blutdruck an, und bemerkenswerterweise vom Ruhewert bis 20 Sekunden nach der Injektion der diastolische etwas steiler als der systolische. Zu gleicher Zeit verringert sich die Amplitudengröße. In dem Anstieg vor allem des diastolischen Druckes glauben wir eine durch die Verengerung größerer Gefäßgebiete bedingte Erhöhung des peripheren Widerstandes erkennen zu können. Die Gefäßwirkung des Strophanthins, die sich nach den Untersuchungen von Gottlieb und Magnus (1) in konstriktorischem Sinne im Splanchnicusgebiet auswirkt, setzt hier fast ohne Latenzzeit ein. Soweit es also die Verhältnisse am gesunden Menschen betrifft, liegt zunächst der äußerlich erkennbare Angriffspunkt des Strophanthins in der Peripherie. Wenn der periphere Widerstand steigt, muß bei gleichen Füllungsbedingungen entsprechend dem Frankschen Druck-Volumendiagramm das Schlagvolumen des

Herzens kleiner werden. Einen Hinweis darauf sehen wir in der Verringerung der Amplitudengröße zu Beginn der Strophanthinwirkung. Obwohl wir unter den gegebenen Versuchsbedingungen über den für die Beurteilung des Schlagvolumens wichtigen Kreislauffaktor, nämlich das elastische Verhalten des Gefäßsystems, keine Aussagen machen können, so mag es doch hier erlaubt sein, einen Schluß von den Veränderungen der Amplitude richtungsmäßig auf solche des Schlagvolumens zu ziehen. Wenn der Blutdruck bei geringerem Schlagvolumen erhöht ist, so kann der Grund für eine Erhöhung des peripheren Widerstandes wahrscheinlich nur in der Einengung der peripheren Strombahn und nicht in der vermehrten Füllung der kleinen Gefäße zu suchen sein. Zur gleichen Schlußfolgerung gelangten Böger und Diehl (4), die mit dem Verfahren von Broemser und Ranke die Werte für das Schlagvolumen und den peripheren Widerstand zahlenmäßig angeben konnten. Somit konnten wir an Hand der Blutdruckkurven die von Gottlieb und Magnus (1) zuerst beschriebene Gefäßwirkung des Strophanthins auch für den Menschen bestätigt finden.

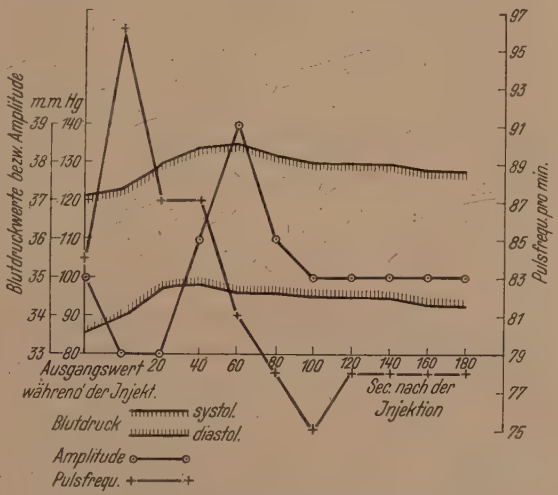


Abb. 5. Änderungen der Blutdruckwerte und der Pulsfrequenz nach Strophanthin (0,25 mg i. v.) beim Gesunden.

Der vasokonstriktorische Effekt des Strophanthins betrifft nicht nur die arterielle, sondern auch die venöse Seite der Gefäßbahn. Die Einengung der venösen Strombahn wird den Rückfluß des Blutes zum rechten Herzen verstärken. Dem größeren Füllungsangebot entsprechend ist das Herz auch in der Lage, mehr Blut auszuwerfen. In der Zeit von 40—80 Sekunden nach der Injektion verzeichnet das Diagramm der Abb. 5 eine geringe Zunahme der Amplitude, die in allerdings nur recht grober Annäherung und mit dem oben angeführten Vorbehalt einen Hinweis auf die in dieser Phase eintretende Schlagvolumenvergrößerung abgeben dürfte. Diese Zunahme der Auswurfmenge des Herzens braucht nicht auf eine direkte Herzwirkung des Strophanthins bezogen zu werden, sie findet in der konstriktorischen Gefäßveränderung und der dadurch bedingten Verstärkung des venösen Rückstroms eine völlig befriedigende Begründung. In diesem Zusammenhang kann auf die Arbeit Reichels (5) verwiesen werden. Anstiegssteilheit und

Dauer der Systole nehmen hier am frischen Froschherzen bei künstlicher Reizung unter Strophanthin zwar beträchtlich zu, aber trotz dieser positiv inotropen Wirkung kommt es nicht zu einer Vermehrung des Schlagvolumens. Auch Anitschkow und Trendelenburg (7) sahen am Herzlungenpräparat beim Hund innerhalb der Suffizienzbreite kaum eine Änderung des Minutenvolumens unter Strophanthin in therapeutischer Dosis. Die Arbeitsbedingungen gestalten sich für das gesunde Herz bereits so optimal, daß auch Strophanthineinfluß die Auswurfmenge nicht vergrößert. Wenn es also doch zu einer Schlagvolumenzunahme kommt, so kann das nur mit einem größeren Füllungsangebot von der Peripherie her erklärt werden. Solange das Herz nicht geschädigt ist, gibt der durch Strophanthin beeinflußte Funktionszustand des Gefäßsystems für die Leistung des Herzens den bestimmenden Ausschlag, und es wird die Schöpfarbeit des Herzens in der Hauptsache durch das Blutangebot an das Herz reguliert.

In derselben Phase der Strophanthinwirkung, die in unseren Versuchen durch eine Vergrößerung der Amplitude ausgezeichnet ist, kommt es zum Auftreten einer deutlichen Bradykardie. Da die Versuchsperson zu Beginn des Versuches auf den Einstich mit einer erheblichen Tachykardie reagierte, setzt hier die Pulsverlangsamung etwas später als bei den übrigen Versuchen ein. Sie ist der Ausdruck eines negativ chronotropen Vaguseffektes, der allen Digitaliskörpern und dem Strophanthin eigen ist. Nach Weese (8) besteht heute mit großer Sicherheit die Annahme, daß die Digitaliskörper und das Strophanthin nicht eine direkte Reizung des Vaguszentrums hervorrufen, sondern vor allem die Ansprechbarkeit der Erfolgsorgane für den physiologischen Vagustonus steigern. Wenn man die Art der Vaguswirkung des Strophanthins in einer Sensibilisierung für den normalen Vagustonus erblicken muß, ist es gut erklärlich, daß in dieser Beziehung sowohl innerhalb der einzelnen Tierarten, wie auch zwischen verschiedenen Menschen eine große individuelle Streuungsbreite besteht. Nicht nur die bradykarde, sondern auch die blutdrucksenkende Vaguswirkung ist hier in Betracht zu ziehen. Diese wirkt dem initialen Blutdruckanstieg, wie aus dem Diagramm der Abb. 5 ersichtlich ist, entgegen. Je nachdem, wie stark beim einzelnen der Vagustonus ausgebildet ist, wird die Blutdrucksteigerung steiler oder flacher ausfallen. Beim kreislaufgesunden, sog. „Vagotoniker", wird es, wie es auch aus unseren Versuchen an einer Versuchsperson zu sehen war, unter Strophanthin nur zu einem geringen pressorischen Effekt kommen können. — Die in der Pulsverlangsamung zum Ausdruck kommende Vaguswirkung des Strophanthins arbeitet synergistisch mit dem Vasokonstriktoreneffekt. Das Herz, das nun eine längere Diastole besitzt, ist dem größeren Zustrom besser angepaßt. Es kann sich stärker füllen. Zugleich erlangt der Ventrikel durch die stärkere Dehnung wahrscheinlich eine größere Anfangsspannung, die ihn befähigt, auf den größeren peripheren Widerstand mit entsprechend größerer Kraftentfaltung zu antworten.

In dem Versuch der Abb. 4, in dem 0,5 mg Strophanthin injiziert wurde, ist der initiale Blutdruckanstieg höher und steiler als bei den üblichen Gaben von 0,25 mg. Auch die anderen aus der Kurve zu entnehmenden Größen erreichen früher ihre größeren Maxima. Noch deutlicher als bei den kleinen Dosen tritt hier die Gefäßwirkung des Strophanthins auf. Der Mitteldruck steigt um etwa 12 % an, die Amplitude sinkt um etwa 5 % ab. Die Dauer dieser Veränderungen ist aber nicht merkbar verlängert. Die höhere Strophanthindosis scheint sich nur akuter und intensiver auszuwirken, ohne die Wirksamkeit wesentlich zu protrahieren. Es ließe sich daraus auf eine entsprechend höhere Abbaugeschwindigkeit im Organismus schließen. Ob diese Beobachtung tatsächlich einer Gesetzmäßigkeit folgt, kann aber aus unserem kleinen Material nicht entnommen werden.

Die Blutdrucksteigerung durch Strophanthin in therapeutischen Dosen am gesunden Menschen ist also nur gering an Ausmaß und Dauer. 3 Minuten nach der Injektion nähern sich die systolischen und diastolischen Drucke wieder stark den Ausgangswerten und sind nach weiteren wenigen Minuten wieder so wie vor der Injektion. Derartig schnell vorübergehende, geringe Blutdruckschwankungen müssen sich naturgemäß der Feststellung durch das Riva-Rocci-Verfahren weitgehend entziehen. Es lag mit in der Absicht dieser Arbeit, die Leistungsfähigkeit der neuen Blutdruckschreibung auch für pharmakologische Zwecke zu demonstrieren.

Eine eindeutige Beeinflussung unter Strophanthin ist auch im Verhalten der Atemfrequenz festzustellen. Die meist zu Beginn des Versuchs auftretende leichte Frequenzsteigerung, die wohl als Reaktion auf den Einstich gedeutet werden darf, geht sofort nach Injektionsende in eine konstante Frequenzabnahme über, deren Tiefpunkt etwa 2—3 Minuten nach der Injektion erreicht wird. Die Kurve gibt uns infolge der Registriermethode nur Auskunft über die Zahl der Atemzüge, nicht über deren Tiefe. Die von uns festgestellte Verlangsamung der Atmung kann hier nur als Nebenbefund erwähnt werden, da es nicht das Ziel vorliegender Arbeit war, in die Diskussion über die Beziehungen zwischen Strophanthin und Atmungsregulation einzutreten. In der Literatur herrscht über den Einfluß des Strophanthins auf die Atmung keine völlige Übereinstimmung (9). Wir glauben aber auf diesen Befund hinweisen zu dürfen, da wir ihn in unseren Versuchen regelmäßig wiederfanden und in den Leerversuchen mit Ringerlösung keine Frequenzänderung der Atmung eintrat. Es erscheint uns die Annahme berechtigt, daß dem Strophanthin neben seiner Wirkung im Sinne einer Sensibilisierung für den physiologischen Vagustonus auch eine Einflußnahme auf das Atemzentrum zuzuschreiben ist.

Zusammenfassung.

1. Mit dem von R. Wagner entwickelten Verfahren zur fortlaufenden Blutdruckregistrierung wurde der Einfluß des Strophanthins auf den arteriellen Blutdruck des gesunden Menschen untersucht und aus den

hierbei erhaltenen Kurven Schlüsse auf die Kreislaufveränderungen gezogen.

2. Die unter Strophanthineinfluß am Gesunden beobachteten Änderungen der Blutdruckwerte werden auf reine Gefäßwirkung zurückgeführt. Die nach dem initialen Blutdruckanstieg einsetzende Amplitudenvergrößerung wird mit einer unter Vorbehalt angenommenen Schlagvolumenvermehrung in Zusammenhang gebracht, die durch den infolge der Vasokonstriktion auftretenden erhöhten Rückfluß des Blutes aus der Peripherie bedingt ist. Die Vaguswirkung des Strophanthins drückt sich in einer bradykarden und blutdrucksenkenden Tendenz aus.

3. Eine höhere Strophanthindosis wirkt anscheinend akuter und intensiver, ohne die Wirksamkeit wesentlich zu protrahieren.

4. Die blutdrucksteigernde Wirkung des Strophanthins ist nur von geringem Ausmaß und erstreckt sich nur über eine kurze Zeit (höchstens 4—5 Minuten).

5. Auf eine die Atemfrequenz verlangsamende Tendenz des Strophanthins wird hingewiesen.

Literatur.

1) Gottlieb u. Magnus: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **47**, 135 (1902). — 2) Kasztan: Ebenda **63**, 405 (1910). — 3) Fahrenkamp: Ebenda **65**, 367 (1911). — 4) Böger u. Diehl: Ebenda **172**, 551 (1933). — 5) Reichel: Z. Biol. **99**, 590 (1939). — 6) Wagner, R.: Methodik und Ergebnisse fortlaufender Blutdruckschreibung am Menschen. Leipzig, Gg. Thieme, 1942. — 7) Anitschkow u. P. Trendelenburg: Dtsch. med. Wschr. **40**, 1672 (1928). — 8) Weese: Digitalis. Leipzig, Gg. Thieme, 1936. — 9) Anthony, Bierling u. Clemens: Beitr. Klin. Tbk. usw. **83**, 241 (1933).

Aus dem Physiologischen und Allgemeinen Pathologischen Institut der Universität Debrecen.

Weitere Untersuchungen über die physiologische Wirkung der Adrenalylazoprotein-Antikörper.

Von

St. Went, L. Kesztyüs und T. Szilágyi.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 16. März 1943.)

Vor einigen Jahren stellten einerseits Harrington und Mitarbeiter, andererseits wir selbst voneinander unabhängig fest, daß sich die natürlichen und synthetisch hergestellten Eiweißverbindungen des Thyroxins in den Immunitätsvorgängen als chemospezifische Antigene verhalten in dem Sinne, daß das Thyroxin neben dem Eiweißschlepper die Rolle der spezifischen Gruppe spielt und dadurch es auch die Spezifität der entstandenen Antikörper bestimmt. Es wurde weiter (1) festgestellt, daß diese Antikörper einen manifesten antagonistischen Einfluß gegen die stoffwechselsteigernde Wirkung des Thyroxins ausüben, daß also durch Behandlung mit Thyroxyleiweißkörpern im Organismus „Antithyroxine" in serologischem und physiologischem Sinne entstehen.

Es lag nun auf Grund dieser Beobachtungen der Gedanke nahe, daß ähnliche Wirkungen auch durch Eiweißverbindungen anderer biologischer und pharmakologischer Wirkstoffe erzeugt werden können. So haben Harrington und Mitarbeiter (2) darauf hingewiesen, daß sich auch die Aspirylproteine als chemospezifische Antigene verhalten, so daß die Spezifität der Aspirylprotein-Antikörper durch die Acethylsalicylacidgruppe des Antigens bestimmt wird. Wenn nun bei jungen Ratten durch Einspritzung von Hefesuspension Fieber erzeugt und dann Aspirylprotein-Antikörper enthaltendes Kaninchenserum injiziert wird, so bleibt die antipyretische Wirkung des Aspirins aus, während an mit Normalserum behandelten Kontrollratten eine regelmäßige antipyretische Aspirinwirkung zustande gekommen ist.

Wir selbst haben zum Zwecke weiterer Untersuchungen einen zweiten biologischen Wirkstoff, namentlich das Adrenalin ausgewählt. Es wurde in den früheren Mitteilungen (3) (4) (5) ausführlich über die Synthesen berichtet, die zur Herstellung des Aminoadrenalins und verschiedener Adrenalylazoproteine führten. Es stellte sich dabei heraus, daß sich die Eiweißverbindungen des Adrenalins ebenfalls als chemospezifische Antigene verhalten in dem Sinne, daß die Spezifität der entstandenen Antikörper durch die Adrenalylgruppe des injizierten Azoproteins bestimmt wird;

die auf Einführung von Adrenalylazoprotein entstandenen Antikörper vermochten aber nicht die Wirkung des Adrenalins am Blutdruck und an der Nickhaut von Katzen, virginellem Katzenuterus, am Trendelenburg-Frosch und an hypodynamen Froschherzen zu hemmen.

Im weiteren erhebt sich nun die Frage, warum die auf die Wirkung der Adrenalylazoproteine entstandenen chemospezifischen Immunstoffe die Antihormonwirkung entbehren, während die auf Einführung natürlicher und artifiziell hergestellter Eiweißverbindungen des Thyroxins entstandenen Antikörper die physiologische Wirkung des Schilddrüsenhormons und die Aspirylprotein-Antikörper die pharmakologische Wirkung des Aspirins aufzuheben imstande sind.

Die Erklärung des Mangels biologischer Wirksamkeit wurde anfangs darin gesucht, daß die Kuppelung des Adrenalins mit den Eiweißmolekülen nur in der Form des Adrenalindiazoniumchlorids möglich war, welches in dem Antigenmolekül das eigentliche Adrenalinradikal nicht ersetzen konnte.

Zur Entscheidung der Frage, ob die Azobindung (—N=N—) in den Adrenalylazoproteinmolekülen eine Chemospezifität-resultierende Wirkung hat, wurden Adrenalylazoprotein-Immunsera mit Benzolazoeiweißkörper zusammengebracht. Eine Präzipitation konnte aber nicht einmal gegen konzentrierte (3%ige) Anilinazoeiweißlösungen beobachtet werden, wogegen dieselbe Sera auch mit 800—5000fachen Verdünnungen 3%iger Adrenalylazoproteinlösungen stark reagierten.

Zur weiteren Klärung dieser Frage haben wir auch die sogenannte Präzipitationshemmungsreaktion von Landsteiner eingestellt, in welcher der hemmende Einfluß verschiedener Verbindungen — Anilin, Dioxybenzole, Nitro- und Aminopyrocatechinderivate, Nitro- und Amino adrenalin und Adrenalin — auf die Präzipitation zwischen Adrenalylazoprotein-Antikörper und dem homologen Antigen untersucht wurde. Die Zusammenstellung und Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in der Tabelle zusammengefaßt.

Tabelle 1.

0,5 ccm 0,01%ige Antigen-(Adrenalylazoprotein-)Lösung + 0,05 ccm von $^1/_{20}$ mol. Lösungen der auf Hemmungseffekt untersuchten Substanzen.

Adrenalylazoprotein-Immunseren	Die auf Präzipitationhemmungseffekt untersuchte Substanz											
	Adrenalin	Amino-adrenalin	Nitro-adrenalin	Amino-adrenalon	Nitro-adrenalon	Aminochlor-acetopyro-catechin	Nitrochlor-acetopyro-catechin	Amino-pyrocatechin	Nitro-pyrocatechin	Pyrocatechin	Resorcin	Anilin
1.	—	—	—	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
2.	—	—	—	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
3.	—	—	—	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
4.	—	—	—	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Aus der Tabelle geht hervor, daß die Präzipitation in den Mischungen von Adrenalylazoprotein-Antikörper und Antigen in Anwesenheit von Adrenalin, Nitroadrenalin und Aminoadrenalin völlig ausbleibt, während auf die Wirkung von Nitro- und Aminoadrenalin eine geringere Hemmung zu beobachten ist. Andere Nitro- und Aminopyrocatechinderivate, Dioxybenzole und Anilin hatten auf die Antigen-Antikörperreaktion überhaupt keinen Einfluß. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen beweisen also einerseits, daß die Adrenalylazoproteine sich als chemospezifische Antigene verhalten und daß in diesen Molekülen die biologisch-aktive Gruppe die Rolle eines Haptens spielt; es geht aber andererseits aus diesen Untersuchungen auch hervor, daß das Adrenalindiazoniumchlorid im Antigenmolekül das Adrenalinradikal immunbiologisch vollkommen ersetzen kann.

Nach Hooker und Boyd (6) — die bezüglich der Mono- und Dinitrostrychninproteine nachweisen konnten, daß diese Verbindungen sich ebenfalls als chemospezifische Antigene verhalten, ihre Immunkörper aber nicht imstande sind, die Giftwirkung des Strychnins zu neutralisieren — ist die Ursache dieser pharmakologischen Unwirksamkeit in dem großen Unterschied zu suchen, welcher zwischen den Molekulargewichten der Alkaloide und dem der chemospezifischen Antikörper besteht. Sie haben annähernd berechnet, daß 1 mg Strychnin zu seiner Neutralisierung mehr als 100 mg Strychninprotein-Antikörper benötigen würde. Daraus aber folgt, daß zur Erreichung einer pharmakologischen Wirkung Antiseren von so hohem Titer herzustellen sind, deren Antikörperkonzentration die großen Differenzen zwischen den Molekulargewichten ausgleicht.

Diese Erklärung ist desto mehr beachtenswert, da nach unserer früher mitgeteilten (3) Untersuchung die Adrenalyl-Pferde- und -Rinderserumazoprotein-Antikörper nur mit höchstens 1 : 5000facher Verdünnung der entsprechenden Antigene eine positive Präzipitation gaben, was, serologisch betrachtet, eine kaum mittelmäßige Immunstoffkonzentration bedeutet. Es besteht natürlich die Möglichkeit, Antiseren von höherer Antikörperkonzentration herstellen zu können, dies ist uns aber bisher noch nicht gelungen. Es ist nun andererseits zu beachten, daß die Immunstoffkonzentration der mit natürlicher und synthetischer Eiweißverbindungen des Thyroxins hergestellten Sera in den meisten Fällen noch kleiner war als dieselbe der Adrenalylazoprotein-Antisera, und solche Sera waren doch imstande, die physiologische, namentlich stoffwechselsteigernde Wirkung des Thyroxins vollkommen aufzuheben. Auf Grund dieser Überlegungen waren wir geneigt, an eine dritte Möglichkeit zu denken, namentlich, daß die Adrenalylazoprotein-Antikörper — ebenso wie die Thyroxyl- und Aspirylprotein-Immunstoffe — doch eine physiologische Wirkung besitzen; als Testobjekte zur Untersuchung der letzteren sind aber nicht die vorher ausgewählten Muskelpräparate, sondern — wie in den Antithyroxinversuchen — die Stoffwechselwirkung des Adrenalins anzuwenden.

Das Ausbreiten der Untersuchungen in dieser Richtung konnte aber deshalb nicht ohne weiteres durchgeführt werden, weil in der Literatur bezüglich der Wirkung des Adrenalins auf den respiratorischen Stoffwechsel einander völlig widersprechende Angaben zu finden waren. So haben einige Autoren [Abelin (7), Aub (8), Bernstein (9), Boothby und Sandiford (10), Gasnier (11) usw.] über die stoffwechselsteigernde, andere [Hari (12), Juschtschenko (13), Joskin (14), Jamakita (15) usw.] über die stoffwechselsenkende Wirkung des Adrenalins berichtet. Nach Moerloose (16), Klein und Weiss (17) u. a. wird die Stoffwechselwirkung des Adrenalins entscheidend durch den Umstand beeinflußt, ob die Versuche an narkotisierten oder nichtnarkotisierten Tieren durchgeführt worden sind.

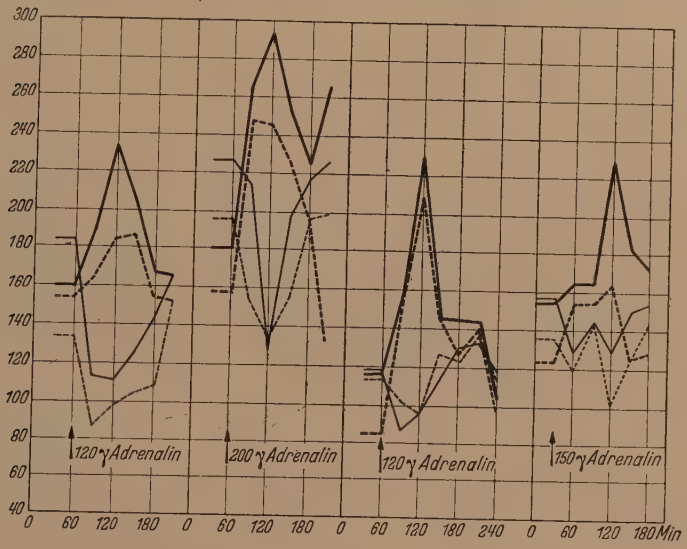
Letzthin haben nun Antal und Schleinzer (18) eine vollkommene Methode ausgearbeitet und damit besonders gründliche und einwandfreie Untersuchungen zur Klärung der Stoffwechselwirkung des Adrenalins unternommen. Nach diesen Untersuchungen steht auf subcutane oder intravenöse Einführung von Adrenalinmengen, die an der oberen Grenze der physiologischen Dosen liegen, eine immer vorhandene, zuerst eintreffende Senkung des respiratorischen Stoffwechsels im Vordergrund (Versuche an Meerschweinchen, Kaninchen, Katzen und Ratten). Diese Wirkung wurde als primäre Beeinflussung des Gewebsstoffwechsels im Sinne einer Hemmung der lokalen oxydativen Prozesse betrachtet. Es wird auch hervorgehoben, daß nachfolgende, oft fehlende Umsatzsteigerungen nach ihrem zeitlichen Ablauf und Dauer nicht als primäre, sondern erst als indirekte, sekundäre Einflüsse aufgefaßt werden können. Alle untersuchten Tierarten zeigen in ihren Reaktionen sowohl mit als auch ohne Narkose eine weitgehende Übereinstimmung. (Bezüglich der physiologischen Deutung der Änderungen des Stoffwechselumsatzes nach Adrenalin siehe die Originalmitteilung der genannten Autoren.)

Auf Grund dieser Untersuchungen scheint die Anschauung, daß das Adrenalin ein stoffwechselsteigerndes Hormon ist, nicht mehr berechtigt zu sein. Es wird im Gegenteil durch Adrenalin der respiratorische Stoffwechsel herabgesetzt und an diesen unmittelbaren Effekt schließt sich erst in einigen Fällen eine Stoffwechselsteigerung an, die aber offensichtlich nicht als eine primäre Adrenalinwirkung betrachtet werden kann.

Damit ist nun die Möglichkeit gegeben zu untersuchen, wieweit die Stoffwechselwirkung des Adrenalins durch Adrenalylazoprotein-Antikörper bzw. durch eine Behandlung mit solchen Hormonproteinen beeinflußt werden kann.

Unsere Untersuchungen wurden an erwachsenen männlichen weißen Ratten durchgeführt. Der Stoffwechselumsatz der bei Standardkost gehaltenen Tiere wurde vorerst durch 16—20 Tage wiederholt (durchschnittlich 14mal) bestimmt. Die Versuchstiere erhielten dann nach 12stündigem Hungern 1 γ/g Körpergewicht Adrenalin (Richter) subcutan.

Nach der Injektion wurde der Stoffwechsel sofort und 3—4 Stunden hindurch in Zeitabständen von 30 Minuten untersucht. Einige Versuche sind in den Abb. 1 und 2 dargestellt (siehe die dünnen unteren Kurven).



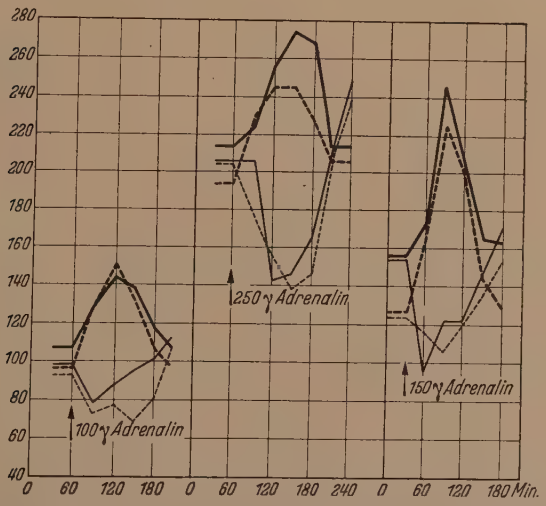


Abb. 1 und 2. Wirkung des Adrenalins auf den Stoffwechsel normaler und mit Adrenalylazoprotein behandelter Ratten. Abszisse: 30 Minuten Zeitintervallen. Ordinate: O_2-Verbrauch und CO_2-Produktion in ccm.

——— O_2-Verbrauch und ····· CO_2-Produktion normaler Ratten.
——— O_2-Verbrauch und – – – CO_2-Produktion von mit Adrenalylazoprotein behandelter Ratten.

Die Kurven der Abb. 1 und 2 zeigen, daß — mit den Versuchsresultaten von Antal und Schleinzer völlig übereinstimmend — auf die Einführung

von physiologischen Adrenalindosen der respiratorische Stoffwechsel von Ratten deutlich abnimmt. Diese Senkung des Stoffwechselumsatzes dauert 1—2 Stunden lang, nachher wird der O_2-Verbrauch und die CO_2-Produktion wieder erhöht bis zu, in einigen Fällen sogar über die normalen Werte. Eine Steigerung des Stoffwechselumsatzes über die Ausgangswerte erfolgte im allgemeinen erst 3—4 Stunden nach der Adrenalininjektion, also in einem Zeitpunkt, wo das eingeführte Adrenalin aus dem Blute schon völlig verschwunden ist.

3 Tage nach den an Normaltieren durchgeführten Versuchen wurden dann dieselben Ratten mit Adrenalylazoeiweißlösung behandelt. Die Tiere erhielten in 21 Tagen achtmal 1,1 ccm Adrenalyleiweiß intraperitoneal. 4 Tage nach der letzten Injektion wurde dann 1 γ/g Körpergewicht Adrenalin subcutan eingeführt, dessen Wirkung auf den Stoffwechselumsatz auf die vorher beschriebene Weise untersucht wurde. Die Versuchsresultate sind in den Abb. 1 und 2 (dicke obere Kurven) dargestellt.

Die Kurven zeigen, daß bei mit Adrenalinazoeiweißkörpern behandelten Tieren die unmittelbare primäre Adrenalinwirkung ausbleibt und statt der letzteren eine deutliche Zunahme des respiratorischen Stoffwechsels erfolgt. Es soll an dieser Stelle hervorgehoben werden, daß die mit Adrenalylazoprotein behandelten Tiere auf Einführung von 0,2 mg Thyroxin mit einer 30—40 %igen Steigerung des Stoffwechselumsatzes, also normal, reagierten, was darauf hinweist, daß die Veränderung der Reaktionsweise sich allein und spezifisch gegen das Adrenalin manifestiert. Es ist auch zu bemerken, daß der respiratorische Stoffwechsel von mit adrenalinfreiem Serumglobulin behandelten Ratten auf Einführung des Adrenalins die normale Senkung zeigte.

Durch die mitgeteilten Untersuchungen ist es noch nicht bewiesen, daß diese Umkehr der Stoffwechselwirkung des Adrenalins tatsächlich durch Adrenalylazoprotein-Antikörper hervorgerufen wurde, wie das im Falle der Thyroxyl- und Aspirylprotein-Immunstoffe vollkommen gelungen ist. Tatsache ist aber, daß während die Behandlung mit Adrenalylazoprotein die Adrenalinwirkung an die vorher (4) (5) untersuchten glatten Muskelpräparate nicht beeinflußte, derselbe Eingriff die Wirkung des Adrenalins auf den Stoffwechselumsatz im Sinne einer völligen Umkehr wesentlich verändert hat. Die physiologische Wirkung der Hormonantikörper scheint also in erster Linie an die hormonale Regelung der Zellstoffwechselvorgänge zur Geltung zu kommen und erst viel weniger an einem sich so schnell einstellenden und ebenfalls schnell ablaufenden mechanischen Vorgang, wie die durch das Adrenalin hervorgerufene Kontraktion der glatten Muskeln. Es ist nämlich zu bedenken, daß das eingespritzte Adrenalin auf die glatten Muskeln seine Wirkung sofort ausübt, wogegen zum Zustandekommen eines immunbiologischen Vorganges — z. B. zur Bindung oder zum Abbau des Adrenalins durch eine Antigen-Antikörper-

reaktion — eine bedeutende Zeitdauer nötig ist. Auf Grund dieser Beobachtungen fühlen wir uns jedenfalls berechtigt festzustellen, daß die mitgeteilten Untersuchungen für einen Schritt gegen den experimentellen Nachweis der biologischen Wirkung der Adrenalylazoprotein-Antikörper angesehen werden können.

Zusammenfassung.

Die synthetischen Eiweißverbindungen des Adrenalins verhalten sich wie die Eiweißverbindungen anderer biologischer und pharmakologischer Wirkstoffe, als chemospezifische Antigene: die auf Einführung von Adrenalylazoprotein entstandenen Antikörper vermochten aber nicht die Wirkung des Adrenalins am Blutdruck und an der Nickhaut von Katzen, virginellem Katzenuterus, am Trendelenburg-Frosch und an hypodynamen Froschherzen zu hemmen. Die vorgeführten neueren Versuche haben vor allem die Feststellung anderer Autoren bestätigt, daß auf Einführung der an der oberen Grenze der physiologischen Dosen liegenden Adrenalinmengen der respiratorische Stoffwechsel der weißen Ratten abnimmt. Bei mit Adrenalylazoeiweißkörpern immunisierten Ratten unterbleibt diese primäre Adrenalinwirkung und kommt statt dieser eine beträchtliche Steigerung des respiratorischen Stoffwechsel zustande. Die physiologische Wirkung der Hormonantikörper scheint also in erster Linie an die hormonale Regelung der Zellstoffwechselvorgänge zur Geltung zu kommen und erst viel weniger an einem sich so schnell einstellenden und ebenfalls schnell ablaufenden mechanischen Vorgang, wie die durch das Adrenalin verursachte Kontraktion der glatten Muskeln. Die Untersuchungen bedeuten einen Schritt gegen den experimentellen Nachweis der biologischen Wirkung der Adrenalylazoprotein-Antikörper.

Literatur.

1) Went, Piribauer u. Kesztyüs: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 312 (1939). — 2) Butler, Harrington u. Yuill: Biochem. J. (Brit.) **34**, 838 (1940). — 3) Went u. Kesztyüs: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 609 (1939). — 4) Went: Klin. Wschr. **1942**, S. 470. — 5) Kesztyüs u. Went: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **198**, 338 (1941). — 6) Hooker u. Boyd: J. Immunol. (Am.) **38**, 479 (1940). — 7) Abelin: Biochem. Z. **129**, 1 (1922). — 8) Aub u. Mitarbeiter: Amer. J. Physiol. **61**, 349 (1922). — 9) Bernstein: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **15**, 86 (1914). — 10) Boothby u. Sandiford: Amer. J. Physiol. **59**, 463 (1922). — 11) Gasnier u. Mayer: Ann. Physiol. (Fr.) **13**, 573 (1937). — 12) Hári: Biochem. Z. **38**, 23 (1912). — 13) Juschtschenko: Ebenda **15**, 365 (1909). — 14) Soskin: Amer. J. Physiol. **83**, 162 (1927). — 15) Jamakita: Tôhoku J. exper. Med. (Jap.) **3**, 590 (1926). — 16) Moerloose: C. r. Soc. Biol. **131**, 769 (1939). — 17) Klein u. Weiss: Endokrinologie **1**, 264 (1928). — 18) Antal u. Schleinzer: Pflügers Arch. **244**, 499 (1941).

Aus dem Physiologisch-chemischen Institut (Direktor: Prof. P. Holtz) und dem Pharmakologischen Institut (stellvertr. Leiter: Prof. P. Holtz) der Universität Rostock*.

Oxytyraminbildung aus Tyramin durch Bestrahlung.

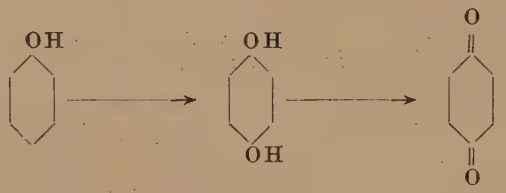
Von

Peter Holtz und **Karl Credner.**

Mit 4 Textabbildungen (6 Einzelbildern).

(Eingegangen am 12. März 1943.)

Es ist bekannt, daß Phenollösungen sich unter der Einwirkung von Licht und Sauerstoff rötlich verfärben. Das Phenol wird hierbei zu Chinon oxydiert. Als Intermediärprodukte bilden sich vermutlich Dioxybenzole, z. B. Brenzcatechin oder Hydrochinon, die auch als solche nachweisbar werden.



Phenol Hydrochinon Chinon

Die somit unter dem Einfluß des Lichtes zunächst erfolgende Anlagerung einer zweiten OH-Gruppe an den Benzolring würde bei manchen pharmakologisch wirksamen Derivaten insofern von Bedeutung sein, als hiermit eine weitgehende Änderung ihres biologischen Wirkungscharakters verbunden wäre. So nimmt z. B. nach Beobachtungen englischer Autoren[1] die pressorische Wirksamkeit von Sympatollösungen nach der Bestrahlung mit ultraviolettem Licht zu. Die Ursache hierfür liegt, wie neuere Untersuchungen von Konzett und Weis[2] zeigen, in einer teilweisen Umwandlung des Sympatols in Adrenalin durch Anlagerung einer zweiten OH-Gruppe an den Phenolkern.

Die Untersuchungen, über die wir im folgenden berichten, sollen einen Beitrag zu dieser Art photochemischer Umsetzungen liefern an Hand eines Beispiels, an dem die erwähnte Strahlenwirkung sich besonders eindrucksvoll demonstrieren läßt.

---

* Ein Teil der Versuche wurde im Pharmakologischen Institut der Universität Greifswald ausgeführt. Herrn Prof. Wels danken wir für die uns gegebene Arbeitsmöglichkeit.

[1] Ewing, P. L., Ph. Blickensdorfer u. H. A. Mc Guigan: J. Pharmacol. (Am.) **43**, 125 (1931). — [2] Konzett, H., u. W. Weis: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 440 (1939).

Methodik.

Tyraminlösungen werden in großen Reagensgläsern aus Quarz mit einer Hanauer Quecksilberdampflampe in der von Wels[3] angegebenen Apparatur, die eine gleichmäßige Bestrahlung unter Wasserkühlung gewährleistet, in ungefähr 20 cm Entfernung vom Brenner bestrahlt. Die bestrahlten Lösungen werden mit den unbestrahlten Kontrollen an der Katze auf ihre Blutdruckwirksamkeit untersucht.

Versuchsergebnisse.

I.

Die erwartete photochemische Reaktion müßte bei der Bestrahlung von Tyramin zur Entstehung von Oxytyramin führen.

Tyramin — Oxy-Tyramin

Die Blutdruckwirkung des Oxytyramins ist entsprechend der näheren chemischen Verwandtschaft „adrenalinähnlicher" als diejenige des Tyramins: die Blutdruckkurve erreicht schneller den Gipfelpunkt und fällt schneller wieder zur Grundlinie ab. Außerdem ist Oxytyramin wirksamer als Tyramin. Beide Charakteristica treffen für das bei Sauerstoffgegenwart bestrahlte Tyramin zu (Abb. 1). Die unter sonst gleichen Bedingungen und gleichzeitig, jedoch unter Ausschluß von Sauerstoff, in Wasserstoffatmosphäre bestrahlte Lösung ist unverändert geblieben.

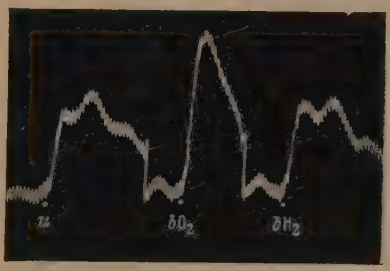


Abb. 1. Oxytyraminbildung durch Bestrahlung von Tyramin. Katzenblutdruck.
u = 1 ccm Tyraminlösung 1 : 4000 (unbestrahlt).
b_{O_2} = 1 ccm Tyraminlösung 1 : 4000 (4 Stunden in Luftatmosphäre bestrahlt).
b_{H_2} = 1 ccm Tyraminlösung 1 : 4000 (4 Stunden in Wasserstoffatmosphäre bestrahlt).

Anstatt der in diesem Versuch zum Ausdruck kommenden Wirksamkeitszunahme des bestrahlten Tyramins findet sich in anderen Versuchen eine Abnahme der Wirksamkeit. Ob Zunahme oder Abnahme, hängt offensichtlich von der Dauer der Bestrahlung und von der Konzentration der bestrahlten Lösung ab. Hohe Tyraminkonzentration — z. B. 1 : 2000 oder 1 : 4000 — und verhältnismäßig kurzdauernde Bestrahlung — z. B. 2—4 Stunden — wirkt sich im Sinne einer Zunahme der Blutdruckwirkung aus, und umgekehrt. Die Erklärung hierfür ist, daß die Anlagerung einer

[3] Wels, P.: Pflügers Arch. 223, 395 (1929).

zweiten OH-Gruppe an den Ring des Tyraminmoleküls wohl nicht die einzige photochemische Reaktion darstellt, die sich in der Tyraminlösung während der Bestrahlung abspielt, sondern daß vermutlich bei anderen Molekülen auch die Seitenkette von der Strahlenwirkung betroffen wird, und wahrscheinlich durch oxydative Desaminierung ein Abbau zu blutdruckunwirksamen Produkten erfolgt. Hinzu kommt, daß das durch Bestrahlung entstehende Oxytyramin, wenn auch natürlich langsamer als es sich bildet, bei längerer Bestrahlung zerstört wird.

Abb. 2. Einfluß von Cocain auf die pressorische Wirkung des bestrahlten und unbestrahlten Tyramins. Katzenblutdruck (10 mg Cocain pro kg).
u = 2,5 ccm Tyramin 1 : 8000 (unbestrahlt).
b_1 = 1,25 ccm Tyramin 1 : 8000 (6 Stunden bestrahlt)
b_2 = 2,5 ccm Tyramin 1 : 8000 (6 Stunden bestrahlt).

II.

Die Blutdruckwirkung des Oxytyramins wird wie diejenige des Adrenalins durch Cocain verstärkt, die Wirkung des Tyramins wird durch Cocain abgeschwächt bzw. fast aufgehoben. Die Abb. 2 zeigt, daß die bestrahlte Tyraminlösung, die in diesem Versuch schwächer wirkt als die unbestrahlte Vergleichslösung — geringere Tyraminkonzentration, längere Bestrahlungsdauer — durch Cocain in ihrer Wirkung deutlich verstärkt wird. Das bestrahlte Tyramin reagiert nicht mehr wie Tyramin, sondern wie Oxytyramin.

III.

Auf den der Strahlenwirkung zugrundeliegenden Reaktionsmechanismus könnten Versuche Licht werfen, die zeigen, daß Tyramin in gleicher Weise wie durch kurzwelliges Licht auch unter der Einwirkung von Wasserstoffsuperoxyd oder von Ascorbinsäure bei Durchleitung von Sauerstoff zu Oxytyramin oxydiert wird (Abb. 3). Vor einigen Jahren fanden wir[4], daß bei der Oxydation von Ascorbinsäure in wässeriger Lösung

[4] Holtz, P., u. G. Triem: Hoppe-Seylers Z. **248**, 1 (1937).

Peroxydsauerstoff gebildet wird, und seit langem ist bekannt, daß bei der Bestrahlung von Wasser kleine Mengen Wasserstoffsuperoxyd entstehen. Die eigentliche Strahlenwirkung würde sich demnach am Lösungsmittel abspielen, die Umwandlung der gelösten Substanz müßte anschließend auch als „Dunkelreaktion" erfolgen können. Beim

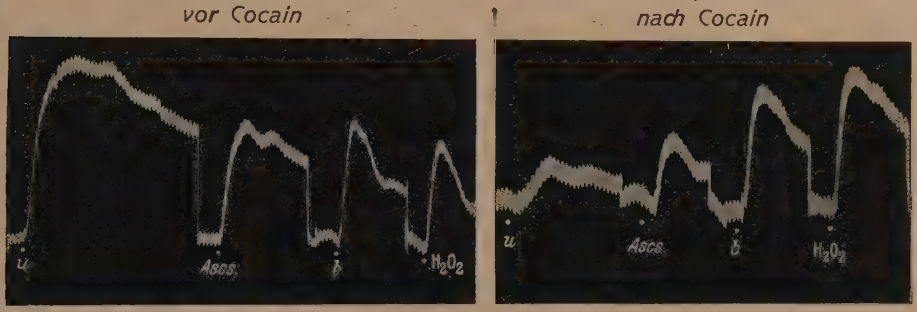


Abb. 3. Die Wirkung von Ascorbinsäure, Wasserstoffsuperoxyd und ultravioletten Strahlen auf Tyramin. Katzenblutdruck.

u = 2,5 ccm Tyramin 1 : 10000 (unbestrahlt).
Ascs. = 2,5 ccm Tyramin 1 : 10000 (+ Ascorbinsäure — 50 mg auf 10 ccm; 8 Stunden Sauerstoffdurchleitung).
b = 2,5 ccm Tyramin 1 : 10000 (8 Stunden bestrahlt).
H_2O_2 = 2,5 ccm Tyramin 1:10000 (+ Wasserstoffsuperoxyd 30 % — 0,1 ccm auf 10 ccm Lösung: 8 Stunden bei 37°).

Abb. 4. Adrenalinbildung aus Sympatol durch H_2O_2 Katzenblutdruck.

Sy = 0,5 ccm (0,5 mg) Sympatol.
Sy + H_2O_2 = 0,5 ccm Sympatol + Wasserstoffsuperoxyd 30 % (0,1 ccm auf 10 ccm Lösung, 6 Stunden bei 37°).

Auflösen von Tyramin in vorher bestrahltem Wasser und mehrstündigem Aufbewahren der Lösung im Dunkeln bilden sich allerdings keine nachweisbaren Oxytyraminmengen. Die schnelle photochemische Zersetzung des entstehenden Wasserstoffsuperoxyds verhindert wohl das Zustandekommen der erforderlichen Konzentration. Bestrahlt man in Gegen-

wart von Tyramin, so dürfte die zu einem gegebenen Zeitpunkt vorhandene Konzentration des Oxydationsmittels nur von untergeordneter Bedeutung sein, da jetzt jedes sich bildende Molekül Wasserstoffsuperoxyd sofort — sozusagen in statu nascendi — mit einem der in Lösung befindlichen Tyraminmoleküle reagieren und es zu Oxytyramin oxydieren kann. — Auf dem gleichen Reaktionsmechanismus beruht wohl auch die von Abderhalden[5] beobachtete Entstehung von Dioxyphenylalanin aus Tyrosin in Gegenwart von Ascorbinsäure.

Wie in den Versuchen von Konzett und Weis durch Bestrahlung, so wird auch unter der Einwirkung von H_2O_2 Sympatol in Adrenalin umgewandelt. Die Sympatollösungen sind jetzt viel wirksamer geworden (Abb. 4) und zeigen die für Adrenalin charakteristische Fluoreszenz bei alkalischer Reaktion (Gaddum und Schild[6]).

Zusammenfassung.

1. Durch Ultraviolettbestrahlung wird Tyramin in wässeriger Lösung zu Oxytyramin oxydiert. Die gleiche Umwandlung erfolgt, wenn Tyraminlösungen bei Gegenwart von Ascorbinsäure mit Sauerstoff durchströmt werden.

2. In beiden Fällen ist das wirksame Agens wahrscheinlich Wasserstoffsuperoxyd, das im ersten Falle durch die Bestrahlung des Lösungswassers, im zweiten Falle bei der Autoxydation der Ascorbinsäure entsteht.

[5] Abderhalden, E.: Fermentforsch. **15**, 24 (1936). — [6] Gaddum, J. H., u. H. Schild: J. Physiol. (Brit.) **80**, 9 P (1934).

Aus dem Physiologisch-chemischen Institut (Direktor: Prof. Dr. P. Holtz) und dem Pharmakologischen Institut (stellvertr. Leiter: Prof. Dr. P. Holtz) der Universität Rostock.

Über die Beeinflussung der Darmwirkung des Histamins durch Aminosäuren*.

Von

Karl Credner und **Wolfgang Schumrick****.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. März 1943.)

In Untersuchungen am Meerschweinchendarm wurde von Edlbacher, Jucker und Baur[1] gezeigt, daß die erregende Wirkung des Histamins in Gegenwart höherer Konzentrationen bestimmter Aminosäuren abgeschwächt wird, unter Umständen sogar aufgehoben ist. Eine besonders starke Hemmung übten Histidin, Arginin und Cystein aus. Die Hemmungswirkung dieser Aminosäuren auf Histamin soll spezifisch sein, sich z. B. nicht auf Acetylcholin erstrecken. Es wäre somit eine einfache Methode zur biologischen Identifizierung von Histamin und zur Abgrenzung gegen andere Substanzen mit ähnlicher pharmakologischer Wirkung gegeben.

Die Befunde sind inzwischen von anderer Seite, so von Ackermann und Fuchs[2] bestätigt und auch schon beispielsweise zur Erhärtung der Identität des aus Leber und Lunge chemisch isolierten darmerregenden Stoffes mit Histamin benutzt worden. Die Reaktion wurde weiterhin zur Stützung der Histamintheorie des anaphylaktischen Schocks herangezogen. Die in der Anordnung des Dale-Schultzschen Anaphylaxieversuchs am isolierten Darm des sensibilisierten Tieres durch das Antigen auslösbare Kontraktion ließ sich wie Histamin z. B. durch Arginin hemmen.

Ackermann[3] hat dann die bisherigen Ergebnisse durch die Untersuchung einer größeren Anzahl anderer Hemmungskörper erweitert und in theoretischen Erörterungen den Hemmungsmechanismus und die Ursache seiner Spezifität aufzuklären versucht. Für die pharmakologische Wirkung des Histamins kommt nach Ackermann zunächst einmal dem Imidazolring als eigentlichem Träger der charakteristischen Wirkung

---

* Das gesamte Versuchsmaterial der Arbeit ging im April 1942 verloren und wurde durch Wiederholung der wichtigsten Versuche im Pharmakologischen Institut der Universität Greifswald zum Teil neu gewonnen. Dem Direktor des Instituts, Herrn Prof. Wels, danken wir für die erwiesene Gastfreundschaft.

** Dissertation Rostock 1942.

[1] Edlbacher, S., P. Jucker u. H. Baur: Hoppe-Seylers Z. **247**, 63 (1937). — [2] Ackermann, D., u. H. E. Fuchs: Ebenda **257**, 153 (1939). — [3] Ackermann, D., u. W. Wasmuth: Ebenda **259**, 28 (1939).

Bedeutung zu; für das tatsächliche Zustandekommen der Wirkung ist jedoch fernerhin die Anwesenheit einer freien Iminogruppe (= NH-Gruppe) im Molekül erforderlich, durch die erst die Bindung des Pharmakons an das morphologische Substrat ermöglicht werden soll. Die Hemmung der Wirkung des Histamins durch andere „Iminokörper", wie z. B. Histidin, Arginin, Spermin, würde dann durch eine Absättigung und Blockierung der NH-Receptoren des Gewebes verursacht sein. Zur Erklärung der Hemmungswirkung des Cysteins wird die Hilfshypothese gebildet, daß bei dieser Aminosäure die Sulfhydrilgruppe die Funktion der Iminogruppe übernimmt.

In einer Arbeit von Holtz und Credner[4] über die Ausscheidung einer histaminähnlichen Substanz im Meerschweinchenharn nach Belastung mit Histidin wurde der hemmende Einfluß der Aminosäuren auf die Darmwirkung der Harnsubstanz als Identifizierungsreaktion verwendet. Weitere Untersuchungen über Spezifität und Ursache der Aminosäurenwirkung führten zu Ergebnissen, die von denen der früheren oben erwähnten Autoren in mancher Beziehung abwichen. Eine soeben erschienene Mitteilung von Jadassohn, Fierz und Vollenweider[5] über Untersuchungen am isolierten Meerschweinchenuterus, die ähnliche Resultate ergaben wie wir sie am Darm erhielten, veranlaßt uns, über unsere fast 1 Jahr zurückliegenden Versuche, die bisher nur in einer Doktordissertation beschrieben wurden, kurz zu berichten.

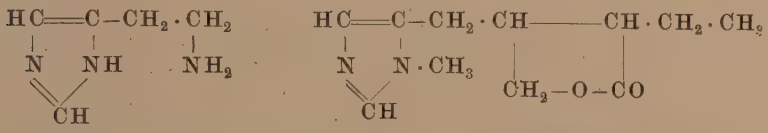
1. Versuche am Meerschweinchendarm.

Methodisches. Das mit Tyrodelösung gefüllte Versuchsgefäß, in dem 2—3 cm lange Darmstücke in der Magnusschen Anordnung aufgehängt wurden, faßte 20 ccm. Von den Aminosäuren wurde 0,5—1 ccm $^1/_4$—$^1/_2$ molarer Konzentration zugesetzt. Nach 3 Minuten langem Einwirken erfolgte — ohne vorheriges Auswaschen — der Zusatz der darmerregenden Substanz.

Die Hemmungswirkung der drei Aminosäuren auf die Histaminkontraktion konnte in allen Fällen bestätigt werden. Nach Zusatz von 0,5—1 ccm m/2 Histidin z. B. findet man regelmäßig eine deutliche Abschwächung der Histaminwirkung. Die Hemmung durch die Aminosäure läßt sich durch ein- bis zweimaliges Auswaschen vollkommen beseitigen. — Aus der Abb. 1 geht nun hervor, daß ähnlich wie die Wirkung des Histamins auch diejenige des Acetylcholins durch die gleiche Histidindosis gehemmt wird. Versucht man, zur Erklärung dieser Hemmungswirkung die von Ackermann diskutierte Möglichkeit einer Blockierung der NH-Receptoren des Gewebes durch die NH-Gruppen des Hemmungskörpers Histidin heranzuziehen, so ergibt sich die Schwierigkeit, daß die Erregungssubstanz Acetylcholin überhaupt keine Iminogruppe besitzt, eine etwaige Ab-

[4] Holtz, P., u. K. Credner: Hoppe-Seylers Z. (im Druck). — [5] Jadassohn, W., H. E. Fierz u. H. Vollenweider: Schweiz. med. Wschr. **1943**, S. 122.

sättigung hypothetischer NH-Gruppen durch den hemmenden Iminokörper also nicht die Ursache der Hemmung sein kann. Dasselbe trifft zu für Versuche mit Pilocarpin, dessen Erregungswirkung, wie die Abb. 2 zeigt, sich z. B. durch Cystein abschwächen läßt.



Histamin Pilocarpin

Pilocarpin ist zwar ein Imidazolderivat, enthält aber keine freie Iminogruppe. Die einzige NH-Gruppe des Moleküls ist vielmehr durch einen Methylrest substituiert. Es wurde schon darauf hingewiesen, daß zur Erklärung der durch Cystein ausgeübten Hemmungswirkung die funktionelle Gleichwertigkeit der SH-Gruppe mit der NH-Gruppe des Iminokörpers gefordert werden müßte.

Die angeführten Versuchsbeispiele zeigen somit, daß die Beeinflussung der Histaminreaktion am Meerschweinchendarm durch die untersuchten Aminosäuren nicht die Spezifität besitzt, die ihr zu-

Abb. 1. Meerschweinchendarm: Acetylcholin-Histidin. 0,25 γ = 0,25 γ Acetylcholin, m/2 = 0,5 ccm m/2 Histidin.

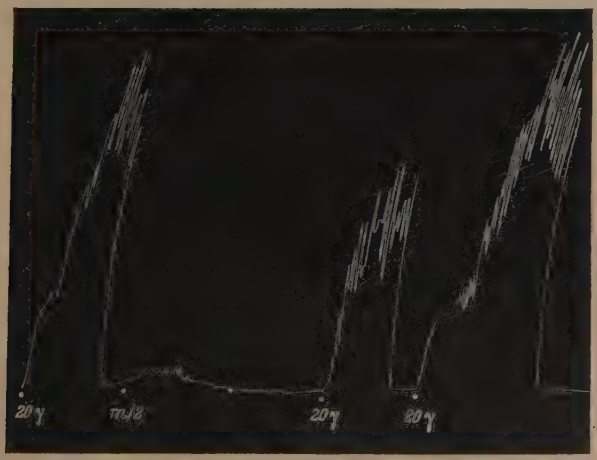


Abb. 2. Meerschweinchendarm: Pilocarpin-Cystein. 20 γ = 20 γ Pilocarpin, m/2 = 0,5 ccm m/2 Cystein.

gesprochen wurde und die notwendig wäre, um sie als Methode zur Identifizierung von Histamin benutzen zu können. Der Versuch, die Ursache der Hemmungswirkung auf eine Blockierung hypothetischer NH-Gruppen des Gewebes zurückzuführen, wird den Tatsachen nicht gerecht.

2. Versuche am Kaninchendarm.

Die Ursache der von den Aminosäuren ausgeübten Hemmung pharmakologischer Erregungswirkungen könnte in einer den Aminosäuren zukommenden, entgegengesetzt gerichteten pharmakologischen Eigenwirkung liegen. Schon in den Versuchen an fast maximal erschlafften

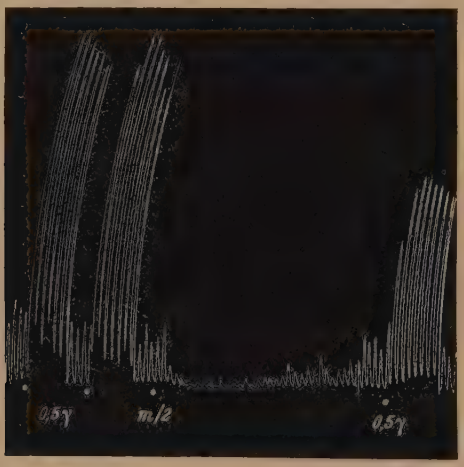


Abb. 3. Kaninchendarm: Acetylcholin-Histidin.
0,5 γ = 0,5 γ Acetylcholin, m/2 = 0,5 ccm m/2 Histidin.

Meerschweinchendarmstücken mit kaum angedeuteten Spontanbewegungen fällt auf, daß der Zusatz von Histidin fast stets zu einer mehr oder weniger deutlichen Tonusabnahme führt. Dieser pflegt bei Anwendung von Cystein eine kurzdauernde Erregungswirkung voranzugehen (vgl. Abb. 1 und 2). Es war zu erwarten, daß eine solche anscheinend darmlähmende Eigenwirkung der Aminosäuren am Kaninchendarm mit seiner ausgeprägten Eigenrhythmik deutlicher zum Ausdruck kommen würde. Wir haben deshalb auch Versuche mit Kaninchendünndarm gemacht. Die Abb. 3 und 4 geben Beispiele für diese Versuche.

Wie erwartet, tritt die schon am Meerschweinchendarm angedeutete Wirkung der Aminosäuren hier deutlicher in Erscheinung. Unter dem Einfluß von Histidin und Arginin kommt es zu einem fast völligen Verschwinden der Pendelbewegungen. Bei längerem Zuwarten scheint der Darm sich allerdings von der Lähmungswirkung wieder etwas zu erholen. Gibt man während der Hemmungsphase das Erregungsmittel, so fällt

die Erregung schwächer aus als vor dem Aminosäurenzusatz. Läßt man dem Darm Zeit, sich von der anfänglichen Hemmung zu erholen, so löst das Erregungsmittel mitunter, jedoch nicht regelmäßig, Kontraktionen normaler Stärke aus.

Cystein ruft am Kaninchendarm eine starke Erregung unter Tonuserhöhung und Vergrößerung der Pendelbewegungen hervor. Diese ist aber nur von kurzer Dauer. Ihr folgt eine vollständige Lähmung mit starkem Tonusabfall und vollkommenem Sistieren der Spontanbewegungen.

Abb. 4. Kaninchendarm: Acetylcholin-Cystein.
0,5 γ = 0,5 γ Acetylcholin, m/2 = 0,5 ccm m/2 Cystein.

Die Lähmung bleibt bestehen, solange Cystein sich in der Lösung befindet. Das auch in diesem Versuch zugesetzte Acetylcholin wirkt jetzt deutlich schwächer als vorher. Nach mehrmaligem Auswaschen gewinnt das Darmstück seinen früheren Tonus und seine ursprüngliche Empfindlichkeit gegen Acetylcholin wieder. Ähnlich wie Cystein wirkt der Zusatz einiger Kubikzentimeter Tyrodelösung, die vorher mit Schwefelwasserstoff durchströmt wurde.

Die geringere Ansprechbarkeit des Darmes auf kontraktionserregende Pharmaka bei gleichzeitiger Einwirkung bestimmter Aminosäuren ist demnach anscheinend durch den lähmenden Einfluß verursacht, den diese ausüben. Dadurch würde verständlich, daß die Hemmungswirkung

der Aminosäuren keine ausgeprägte Spezifität einem bestimmten Erregungsmittel, z. B. Histamin, gegenüber entwickelt, sondern sich auch auf andere Pharmaka, deren pharmakologischer Angriffspunkt zudem von demjenigen des Histamins verschieden sein kann, erstreckt. In dieselbe Richtung weist die von Jadassohn und Mitarbeitern in der schon erwähnten Arbeit mitgeteilte Beobachtung, daß am isolierten Meerschweinchenuterus auch die Pituglandolwirkung durch Iminokörper gehemmt wird.

Zusammenfassung.

1. Die von Edlbacher am Meerschweinchendarm gefundene hemmende Wirkung bestimmter Aminosäuren — Histidin, Arginin, Cystein — auf die durch Histamin hervorgerufene Kontraktion ist nicht spezifisch. Sie erstreckt sich z. B. auch auf die Darmwirkung des Acetylcholins und Pilocarpins. Die von Ackermann unter Voraussetzung der Spezifität der Reaktion zur Erklärung des Zustandekommens diskutierte Blockierung hypothetischer =NH-Receptoren des Gewebes durch die Imino- bzw. SH-Gruppen der hemmenden Aminosäuren wird deshalb nicht allen Tatsachen gerecht.

2. Die Ursache der von den Aminosäuren ausgeübten Hemmungswirkung könnte, wie insbesondere Versuche am isolierten Kaninchendarm zeigen, auf der den Aminosäuren selbst zukommenden darmlähmenden Wirkung beruhen.

Aus dem Physiologisch-chemischen Institut (Prof. P. Holtz) und dem Pharmakologischen Institut (stellvertr. Leiter: Prof. P. Holtz) der Universität Rostock.

Zur Frage der Histaminbildung aus Histidin durch Ascorbinsäure.

Von

Karl Credner.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. März 1943.)

Läßt man Ascorbinsäure in Gegenwart von Sauerstoff und bei neutraler Reaktion auf Histidin in wässeriger Lösung einwirken, so bilden sich, wie von Holtz[1] beobachtet wurde, kleine Mengen einer Substanz, die sich am Blutdruck und Darm wie Histamin verhält. Auf Grund von Modellversuchen, in denen die abwechselnde Durchströmung von Histidinlösungen mit an Palladium katalytisch erregtem Sauerstoff und Wasserstoff ebenfalls zum Auftreten histaminähnlicher Wirksamkeit führte[2], wurde folgender Reaktionsmechanismus der Histaminbildung angenommen: „Peroxydartige Zwischenprodukte, die bei der Autoxydation der Ascorbinsäure entstehen[3], dehydrieren die Aminosäure zur Iminosäure. Aus dieser spaltet sich spontan Kohlensäure ab. Das so entstandene Imin wird von den noch nicht oxydierten, in der Reduktionsform vorliegenden Anteilen der zugesetzten Redoxsubstanz zum Amin hydriert." Bestrahlt man schließlich Histidinlösungen mit ultraviolettem Licht, so bildet sich ebenfalls Histamin. Die Ausbeute konnte hier so erhöht werden, daß auch die chemische Identifizierung des Amins möglich war[4].

In einer vor kurzem erschienenen Arbeit von Alechinsky[5,6] werden diese Befunde insofern bestätigt, als auch in den Versuchen dieses Autors durch Bestrahlung oder Einwirkenlassen von Ascorbinsäure aus Histidin eine depressorisch wirkende Substanz erhalten wird. Zur Identifizierung der Substanz mit Histamin wird versucht, durch intravenöse Injektion der bestrahlten bzw. mit Ascorbinsäure behandelten Histidinlösungen beim Meerschweinchen Schock auszulösen. Das gelingt auch mit 0,5—1,5 ccm der bestrahlten Versuchsansätze, dagegen sind selbst 10 ccm des Ascorbinsäure-Histidingemisches wirkungslos. Alechinsky[6] zieht hieraus die

[1] Holtz, P.: Naturw. **1937**, S. 14; Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 269 (1937). — [2] Holtz, P.: Ebenda **187**, 589 (1937). — [3] Holtz, P., u. G. Triem: Naturw. **1937**, S. 251; Hoppe-Seylers Z. **248**, 5 (1937). — [4] Holtz, P.: Klin. Wschr. **1933**, S. 1613; Naunyn-Schmiedebergs Arch. **175**, 97 (1934). — [5] Alechinsky, A.: C. r. Soc. Biol. **92**, 704 (1940). — [6] Alechinsky, A.: Acta biol. (Belg.) **1**, 70 (1941).

Folgerung, daß die durch Ascorbinsäure aus Histidin gebildete depressorische Substanz im Gegensatz zu der durch Bestrahlung entstandenen kein Histamin sein kann.

Ich habe versucht, die Identität auch der durch Ascorbinsäure gebildeten blutdrucksenkenden Substanz mit Histamin zu erhärten und die Ursache für das negative Ergebnis der von Alechinsky ausgeführten Schockversuche aufzuklären.

Versuchsergebnisse.

1. Die Auswertung gegen Histamin ergab in der Arbeit von Holtz[1], daß unter den angewandten Versuchsbedingungen 1 ccm der Histidin-Ascorbinsäurelösung die Wirksamkeit von 1—1,5 γ Histamin besaß.

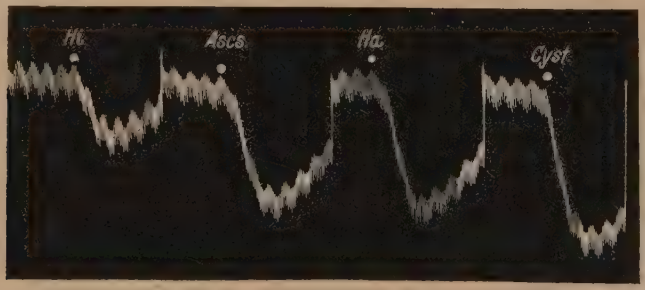


Abb. 1. Auswertung der blutdrucksenkenden, histaminähnlichen Substanz in Histidin-Ascorbinsäurelösungen.
Katzenblutdruck.
Hi = 1 ccm Histidinlösung.
Ascs. = 1 ccm Histidin-Ascorbinsäurelösung.
Ha = 1,5 γ Histamin.
Cyst. = 1 ccm Histidin-Cysteinlösung (vgl. Methodik).

Methodisches. 100 mg l-Histidinmonochlorhydrat (Hoffmann-La Roche) und 50 mg kristallisierte Ascorbinsäure werden in 10 ccm destilliertem Wasser gelöst, mit Natronlauge neutralisiert und in großen Reagensgläsern 24 Stunden bei 37° gehalten. In anderen Versuchen wurde 25 mg Cystein anstatt 50 mg Ascorbinsäure zugesetzt. — Auswertung gegen Histamin am Katzenblutdruck.

Das zur Kontrolle injizierte Histidin übt schon an sich eine geringfügige depressorische Wirkung aus (Abb. 1). Das von Hoffmann-La Roche hergestellte Präparat enthält offensichtlich, worauf schon früher von Holtz hingewiesen wurde, kleine Mengen Histamin. Die Versuchslösung mit Ascorbinsäure wirkt deutlich stärker blutdrucksenkend. In Übereinstimmung mit den von Holtz erhaltenen Auswertungsergebnissen entspricht die Wirksamkeit von 1 ccm des Histidin-Ascorbinsäureansatzes höchstens derjenigen von 1,5 γ Histamin. Die mit Cystein behandelten Lösungen sind etwas wirksamer. — In den Versuchen von Alechinsky, der mit der gleichen Versuchsanordnung arbeitete, sind demnach mit einer intravenösen Injektion von 10 ccm Histidin-Ascorbinsäurelösung höchstens 15 γ Histamin injiziert worden.

Ich habe drei Meerschweinchen im Gewicht von 500—600 g je 30 γ Histamin in die V. saphena injiziert. Die Injektionen wurden symptomlos vertragen. Die kurz darauf vorgenommene Injektion von je 100 γ Histamin an den gleichen Tieren blieb ebenfalls ohne Wirkung. Erst nach einer dritten Injektion von wiederum 100 γ traten leichte, schockartige Symptome in Form erschwerter, krampfartiger Atmung auf, die aber in kurzer Zeit wieder verschwanden. Die gleiche Reaktion in etwas stärkerer Ausprägung trat bei einem Meerschweinchen von 400 g Körpergewicht auf, dem gleich 200 γ Histamin intravenös injiziert wurden.

Alechinsky hätte demnach, um auch nur schockartige Symptome auszulösen, seinen Meerschweinchen die 10—15fache Menge, d. h. 100 bis 150 ccm der mit Ascorbinsäure behandelten Histidinlösung intravenös injizieren müssen. Sein negativer Befund spricht nicht gegen die Identität der aus Histidin entstandenen depressorischen Substanz mit Histamin.

2. Bei Ultraviolettbestrahlung von Histidin bildeten sich in den Versuchen von Holtz[4] pro ccm Histidinlösung ungefähr 20 γ Histamin. Nur unter besonders günstigen Bedingungen — Bestrahlung bei alkalischer Reaktion in Stickstoffatmosphäre — erhöhte sich die Ausbeute auf 50 γ pro ccm. In den Versuchen Alechinskys führte die intravenöse Injektion von 1,5 ccm der bestrahlten Lösung zu tödlichem Schock. Das injizierte Volumen hätte höchstens 75 γ Histamin enthalten können. Diese Dosis genügte aber in meinen Injektionsversuchen bei weitem nicht, um auch nur schockartige Symptome hervorzurufen. Die Diskrepanz erklärt sich hier zwanglos durch die höhere Ausbeute, die Alechinsky durch Anwendung einer besonders wirksamen Bestrahlungstechnik erhielt. Nach seinen Angaben enthielt die Histidinlösung, die in einem der Größe des Quarzbrenners angepaßten Glasgefäß in dünner Schicht durch den in die Lösung eingetauchten Brenner bestrahlt wurde, 350 γ Histamin in 1,5 ccm, also rund 200mal mehr als die Histidin-Ascorbinsäurelösung.

Das verschiedene Verhalten der mit Ascorbinsäure behandelten und der bestrahlten Histidinlösungen bei der Injektion findet somit seine Erklärung in der unterschiedlichen Dosierung der wirksamen Substanz.

3. Die durch Ascorbinsäure gebildeten Mengen wirksamer Substanz sind zu gering, als daß eine chemische Isolierung und Identifizierung aussichtsreich erschiene. Ich habe deshalb versucht, die Identität mit Histamin weiterhin wahrscheinlich zu machen, indem ich das Verhalten der histaminähnlichen Substanz gegenüber dem histaminzerstörenden Ferment Histaminase (Diaminoxydase) untersuchte.

Methodisches. Je 4 ccm der wirksam gewordenen Histidin-Ascorbinsäurelösung wurden mit 1 ccm Aqu. dest. bzw. 1 ccm einer Histaminaselösung — „Torantil", Bayer — ($^2/_3$ Einheiten) versetzt und nach 2stündigem Aufenthalt im Brutschrank am Blutdruck der Katze untersucht.

Die Abb. 2 zeigt das Ergebnis eines derartigen Versuchs. Die histaminähnliche Substanz der Versuchslösungen wird wie Histamin durch das Histaminasepräparat zerstört.

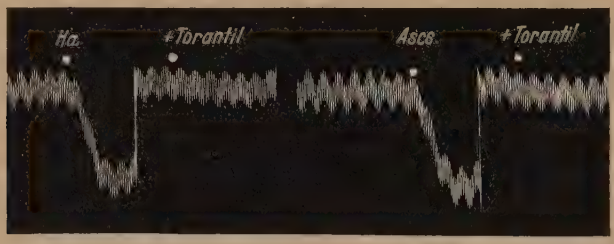


Abb. 2. Zerstörung der histaminähnlichen Substanz durch Histaminase (Torantil). Katzenblutdruck.
Ha = 1,5 γ Histamin.
Ascs. = 1 ccm Histidin-Ascorbinsäurelösung.

Zusammenfassung.

1. Von anderer Seite geäußerte Einwände gegen die Identität der durch Ascorbinsäure aus Histidin gebildeten pharmakologisch wirksamen Substanz mit Histamin werden entkräftet.

2. Die wirksame Substanz wird wie Histamin durch Histaminase zerstört. Hierin wird ein weiterer Beweis für ihre Identität mit Histamin erblickt.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Köln.
(Direktor: Prof. Dr. Josef Schüller.)

Über den Einfluß einiger Analeptica (Cardiazol, Coramin, Neospiran und Cycliton) auf die Körpertemperatur des normalen und narkotisierten Kaninchens.

Von
Fritz Hahn.

Mit 6 Textabbildungen (9 Einzelbildern).

(Eingegangen am 5. April 1943.)

Die Frage, ob Cardiazol oder Coramin das bessere Analepticum ist, ist von klinischer Seite unterschiedlich beantwortet worden. Man hat unter dem Eindruck der gelegentlich sehr heftig vorgetragenen Meinungsverschiedenheiten auch die Möglichkeit erörtert, daß beiden Stoffen Sondervorzüge zukommen könnten (Pharmakologenkongreß München 1935[1]) ohne dieselben freilich genauer angeben zu können. Eine Festlegung von Sondervorzügen setzt aber eine möglichst eingehende Kenntnis aller pharmakologischen Unterschiede beider Stoffe voraus. Dementsprechend ist die Zahl der Untersuchungen nicht gering, die sich mit dieser Frage beschäftigen und sich bemühen, an Hand der Weckwirkung, der Atem- und Kreislaufwirkung eine Differenzierung beider Stoffe vorzunehmen (Literatur bei Hildebrandt[2]). Nachdem ich[3] in eigenen Untersuchungen zu diesen Fragen Beiträge liefern konnte, soll im folgenden über Unterschiede zwischen Cardiazol und Coramin auf einem bisher noch nicht berücksichtigten Gebiet berichtet werden, nämlich auf dem Gebiet des Wärmehaushalts.

Die Möglichkeit einer Einwirkung von Cardiazol und Coramin auf die Körpertemperatur war von vornherein durch die bekannte Tatsache gegeben, daß manche Vertreter der Krampfgifte, zu denen ja auch die Analeptica gehören, besondere Beziehungen zum Wärmehaushalt aufweisen (Harnack und Mitarbeiter[4]). Dabei muß besonders das unterschiedliche Verhalten der einzelnen Krampfgifte hervorgehoben werden, da wir solche mit temperatursteigernder (Cocain, Coffein, Tetrahydronaphthylamin) und solche mit temperatursenkender Wirkung (Pikrotoxin,

---

[1] Verh. dtsch. pharmak. Ges., 12. Tagung, München 1935. — [2] Hildebrandt, F.: Handb. d. exper. Pharmak., Erg.-Werk, Bd. 5, S. 128 u. 151 (1937). — [3] Hahn, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **198**, 472, 491, 509 (1941). — [4] Harnack, E. u. Mitarb.: Z. Klin. Med. **24**, 374 (1894); **25**, 16 (1894); Naunyn-Schmiedebergs Arch. **38**, 397 (1897); **40**, 151 (1898); **45**, 272 (1901); **45**, 447 (1901); **49**, 157 (1903).

Veratrin, Santonin, Aconitin) kennen. Es erschien daher nicht ausgeschlossen, daß auch zwischen Cardiazol und Coramin ähnliche Unterschiede bestehen könnten. Bei der Durchsicht der Literatur fand ich nur für das Cardiazol in dem Cardiazolbuch der Firma „Knoll" die kurze Angabe einer temperatursenkenden Wirkung dieses Stoffes bei Kaninchen.

Die Temperaturwirkungen der Krampfgifte haben Anlaß zu bestimmten Fragestellungen über die Pharmakologie und Physiologie der zentralnervösen Wärmeregulation gegeben, auf die hier zunächst nur hingewiesen sei. Für die engere Gruppe der Analeptica erstreckt sich aber das Interesse an ihren Temperaturwirkungen auch noch auf klinisch-therapeutische Probleme. Denn bekanntlich spielt innerhalb des Indikationsbereiches der Analeptica, also bei vielen Formen des Kollapses wie auch insbesondere der Narkose, der Temperaturkollaps eine besondere Rolle. Die Art der Einwirkung der Analeptica auf diese Störung des Wärmehaushalts könnte daher im Rahmen des Gesamteffekts ihrer therapeutischen Wirkung eine Bedeutung haben. Es mag daher vielleicht sogar überraschen, daß diese Seite des Problems bei der Untersuchung der Temperaturwirkung zentralerregender Stoffe bisher anscheinend wenig Beachtung gefunden hat.

Das Studium dieser Probleme setzt nun aber Versuche an Tieren im Zustande des Wärmekollapses voraus. Am einfachsten läßt sich dieser Zustand durch Narkose herbeiführen. Im folgenden soll daher auch über solche Versuche berichtet werden, nachdem zunächst die Temperaturwirkung der Analeptica Coramin und Cardiazol an normalen Tieren geprüft worden ist.

Geht man in dieser Weise von Befunden am normalen Wärmehaushalt aus, so ergibt sich für die Einwirkung der zentralerregenden Stoffe auf die durch Narkose gesenkte Körpertemperatur zunächst die Frage, ob die am normalen Tier festgestellte Wirkung auch am narkotisierten Tier festzustellen ist. Bezüglich einiger anderer Krampfgifte gewinnt man hierüber aus der Literatur kein einheitliches Bild. Rosenthal und Wallach[5] fanden die Kühlwirkung des Pikrotoxins und Skowroński[6] die Fieberwirkung des Tetrahydronaphthylamins in der Narkose aufgehoben. Dieser Antagonismus war jedoch nicht immer nachweisbar, sondern hing von der Art des Narkoticums ab. Ganz im Gegensatz zu einem solchen Antagomismus sprechen aber ältere Untersucher (Harnack und Meyer[7], Harnack und Hochheim[8]) sogar von einer auffallenden synergistischen Wirkung einiger Narkotica und gewisser Krampfgifte mit temperatursenkender Wirkung (Pikrotoxin und Santonin).

Aber abgesehen von der Frage des Narkoseeinflusses auf die am normalen Tier feststellbare Temperaturwirkung der Krampfgifte müssen

[5] Rosenthal, F., u. G. Wallach: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 219 (1936). — [6] Skowroński, V.: Ebenda **146**, 1 (1929). — [7] Harnack, E., u. H. Meyer: Z. Klin. Med. **24**, 374 (1894). — [8] Harnack, E., u. W. Hochheim: Ebenda **25**, 16 (1894).

wir auch mit der Möglichkeit rechnen, daß den zentralerregenden Stoffen unter den Bedingungen der Narkose Temperaturwirkungen zukommen, die von den am Normaltier festgestellten qualitativ abweichen. Eine solche Möglichkeit deutet sich erst in einer neueren Arbeit Rosenthals [9] durch die Beobachtung an, daß bei gleichzeitiger Gabe eines Narkoticums und von Pikrotoxin nicht nur die Kühlwirkung des Pikrotoxins aufgehoben ist, sondern auch der narkotische Temperatursturz ausbleibt. Rosenthal spricht hierbei von einer Umkehr der Pikrotoxinwirkung in der Narkose. Die Deutung dieses Befundes ergibt sich für Rosenthal auf Grund der „klassischen" Vorstellung vom Mechanismus der Wärmeregulation durch die Annahme, daß Pikrotoxin am normalen Tier das „Kühlzentrum" (H. H. Meyer[10]) und am narkotisierten Tier das „Wärmezentrum" reize.

Seitdem nun aber Thauer[11] durch grundlegende Untersuchungen neue Vorstellungen über den Mechanismus der Wärmeregulation entwickelt hat, die sich nicht mehr auf der Annahme einer alleinigen und ausschlaggebenden Bedeutung hypothalamischer Zentren gründen, ergibt sich auch für die Temperaturwirkung der Krampfgifte die Notwendigkeit einer Revision unserer Auffassungen.

Fassen wir zunächst nur die Möglichkeiten ins Auge, die sich bei der Narkose ergeben könnten, so ist eine soeben erschienene Arbeit Thauers[12] von Bedeutung, in welcher er zeigt, daß der narkotische Temperatursturz auch ohne die Annahme eines selektiv zu lähmenden Wärmezentrums durch die Reduktion der gesamten Lebensprozesse in der Narkose erklärt werden kann. Insbesondere hat Thauer den Nachweis geführt, daß im Gegensatz zu der Beeinflussung anderer zentralnervöser Funktionen, wie vor allem der Atmungsregulierung durch die Narkose, das Ausmaß der Temperatursenkung unabhängig von der Art des Narkoticums ist, dagegen in strenger Abhängigkeit von der an Hand des Ausfalls der Körperstell- und Labyrinthreflexe meßbaren Narkosetiefe steht. Bei dieser Sachlage darf erwartet werden, daß die Analeptica in erster Linie einmal durch ihre allgemeine Weckwirkung Einfluß auf die Körpertemperatur in der Narkose gewinnen, indem sie dadurch den Temperaturkollaps antagonistisch beeinflussen. Ohne die Annahme einer selektiven Reizung eines Wärmezentrums notwendig zu machen, würde dieser Effekt allein genügen, um den Umschlag der Wirkung des „Kühlgiftes" Pikrotoxin in der Narkose zu erklären, wie ihn Rosenthal freilich ohne gleichzeitige Berücksichtigung der Weckwirkung beschreibt.

Zusammenfassend wird man auf Grund der Literatur die Frage zu entscheiden haben, ob die Temperaturwirkung der Analeptica in der Narkose nach Richtung und Größe eindeutig durch ihre Weckwirkung

---

[9] Rosenthal, F. E.: J. Pharmacol. (Am.) **71**, 305 (1941). — [10] Meyer, H. H.: Verh. dtsch. Kongr. f. inn. Med., 30. Kongr. 1913. — [11] Thauer, R.: Erg. Physiol. **41**, 607 (1939). — [12] Thauer, R.: Pflügers Arch. **246**, 372 (1942).

festgelegt ist oder ob sich durch Abweichen des Temperaturverhaltens von dem auf Grund der Weckwirkung geforderten Verlauf Hinweise für eine spezifische Einwirkung der Analeptica auf den Wärmehaushalt ergeben. Es wäre auch mit der Möglichkeit der Überlagerung zweier Effekte zu rechnen, indem etwa die am Normaltier festgestellte Temperaturwirkung in der Narkose in Konkurrenz träte mit den durch die Weckwirkung bedingten Temperaturveränderungen.

Bisher ist in der Literatur nur von Skowroński[6] auf die Weckwirkung Bezug genommen worden. Der von ihm erhobene Befund freilich, wonach sich die Weckwirkung des Tetrahydronaphthylamins am Kaninchen ohne Beeinflussung des bestehenden Temperaturkollapses zur Darstellung bringen lassen soll, ist so schwer verständlich, daß er hier nur angeführt sei, um die Notwendigkeit von Untersuchungen in der hier angedeuteten Richtung zu unterstreichen.

Wir haben in unseren Versuchen, die bereits vor Erscheinen der Arbeit Thauers[12] über den Einfluß der Narkose auf den Wärmehaushalt fertiggestellt waren, von vornherein neben der Temperaturwirkung der Analeptica auch ihre Weckwirkung berücksichtigt und sind daher in der Lage, im folgenden zu den angeschnittenen Fragen Stellung zu nehmen.

Bei diesen Versuchen sind außer Cardiazol und Coramin auch die beiden dem Coramin als alkylierte Säureamide nahestehenden Analeptica Neospiran und Cycliton berücksichtigt worden.

I. Versuche an normalen Kaninchen.

Methodisches: Zu diesen Versuchen kamen insgesamt 15 Kaninchen im Gewicht von 2,0—4,2 kg zur Verwendung, nachdem am Tage vorher das Futter abgesetzt war. Temperaturmessung mit einem gewöhnlichen Fieberthermometer, dessen Skala bis unter 34° C ging und das stets gleichmäßig tief (4 cm) ins Rectum 5 Minuten lang eingeführt wurde. Raumtemperatur 19—20°. Durch wiederholte Messung in einer zweistündigen Vorperiode wurde ermittelt, ob die Temperatur konstant blieb bzw. wie groß die normalen Schwankungen waren.

a) Ergebnis der Cardiazolversuche.

Das Ergebnis der Cardiazolversuche läßt sich dahin zusammenfassen, daß es sich hier tatsächlich um ein Krampfgift mit eindeutig temperatursenkender Wirkung handelt. Wir haben diese Wirkung an insgesamt 12 Kaninchen (Gewicht 2,1—4,1 kg) auch bei wiederholter Prüfung und zu den verschiedenen Jahreszeiten immer wieder gefunden. Sie kommt wegen der Flüchtigkeit der Cardiazolwirkung am besten bei subcutaner Zufuhr zur Geltung und tritt ganz unabhängig davon auf, ob Krämpfe ausgelöst werden oder nicht. Eindeutige Effekte erzielt man freilich erst mit sehr hoher, jedoch noch unter der Krampfschwelle liegender

Dosierung. Nimmt man als mittlere subcutane Krampfdosis 35 mg/kg an (Hildebrandt[2]), so erhält man nach unseren Feststellungen an 8 verschiedenen Tieren mit der Hälfte dieser Dosis meist nur Temperatursenkungen von etwa 0,5—0,7°, oder sogar eine noch geringere und daher zweifelhafte Wirkung. Nur an einem Tier war regelmäßig eine relativ starke Wirkung (Senkung um 1,7°) festzustellen. Dagegen ging in 7 Versuchen an 7 verschiedenen Tieren nach 25—30 mg/kg Cardiazol die Temperatur um 0,7—2,8° herunter.

Über den zeitlichen Verlauf einer derartigen Kühlwirkung des Cardiazols orientiert Teil I und II der Tabelle 1.

Tabelle 1. Kaninchen 148, ♂, 2,77—2,85 kg.

	I		II		III		IV		V	
Ausgangstemperatur (T) und -atmung (A) pro Min.	T 39,0°	A 54	T 39,3°	A 48	T 39,6°	A 58	T 39,6°	A 78	T 39,2°	A 65
Injektion von:	Cardiazol 28 mg/kg		Cardiazol 35 mg/kg		Pikrotoxin 0,80 mg/kg		Pikrotoxin 1,0 mg/kg		Coramin 250 mg/kg	
Temperatur und Atmung pro Min. nach 20 Min.	38,2°	250	38,3°	310	39,6°	75	38,6°	291	39,3°	166
„ 40 „	**37,4**	136	37,5	270	38,0	242	37,5	300	39,9	180
„ 60 „	**37,4**	85	**37,1**	182	37,3	159	36,9	210	40,1	170
„ 80 „	37,5	80	37,2	130	**37,0**	138	**36,5**	150	40,3	159
„ 100 „	38,1	68			37,4	132	36,7	144	40,3	164
„ 120 „	38,5	60	38,0	108	37,9	100	36,8	136	**40,4**	120
„ 180 „	38,9	60	38,6	82	38,9	54	37,8	93	40,2	96
„ 240 „									39,8	81
„ 300 „									39,5	80
Maximale Temperaturdifferenz	− 1,6°		− 2,2°		− 2,6°		− 3,1°		+ 1,2°	

Die in beiden Versuchen ohne Krämpfe hervorgerufene Temperatursenkung erreicht ihr Optimum nach 40—60 Minuten und hält nach der kleineren Dosis 3 Stunden und nach der größeren noch länger an.

Spalte III und IV der Tabelle 1 orientieren darüber, daß die Cardiazolwirkung im großen und ganzen der Pikrotoxinwirkung entspricht. Die gewählten Pikrotoxindosen sind den Cardiazoldosen auf Grund ihrer Krampfwirkung äquivalent. Die Pikrotoxinwirkung setzt etwas später ein als die Cardiazolwirkung. Dieser Unterschied ist auch hinsichtlich anderer Wirkungen beider Stoffe (Krämpfe, Blutdrucksteigerung, Hahn[3]) festzustellen und beruht nicht oder nicht nur auf einer verlängerten Resorption des Pikrotoxins bei subcutaner Injektion, da er auch bei intravenöser Injektion festzustellen ist. Auch die anschließend noch zu besprechende Atemfrequenzsteigerung zeigt den gleichen verzögerten Anstieg bei Pikrotoxin (vgl. auch Das[13]). Bemerkenswert ist auch die größere Intensität und die wohl damit zusammenhängende größere Dauer der Pikrotoxin-

[13] Das, S. C.: Quart. J. Physiol. **29**, 355 (1939).

wirkung trotz der im obigen Sinne zu definierenden pharmakologischen Äquivalenz der Dosen. So scheinen also gewisse Wirkungsunterschiede zu bestehen, die jedoch nicht grundsätzlicher Natur sind und erst auf Grund größerer Versuchsreihen sicherzustellen wären.

Die Kühlwirkung des Cardiazols ist in ihrem Ausmaß außerordentlich abhängig von der Individualität der Versuchstiere, dagegen bei ein und demselben Tier auch bei monatelanger Prüfung in gewissen Abständen von ziemlicher Konstanz. Wir haben in unserem Versuchsmaterial nicht beobachten können, daß kleinere Tiere sich besser eignen, wie es Harnack[14]) für andere Krampfgifte mitteilt.

Dagegen erwies sich von ersichtlichem Einfluß die Höhe der Umgebungstemperatur. Bei einem Kaninchen (Nr. 148, dem Versuchstier der Tabelle 1) haben wir im Laufe von mehreren Monaten die gleiche Dosis bei Außentemperaturen von 4—30° C geprüft. Die Versuche mit Temperaturen von 10° abwärts wurden während der kälteren Jahreszeit im Freien ausgeführt, die Versuche mit Temperaturen von 25° aufwärts in einem kleinen, mit Gas geheizten Raum, wobei der erhöhte Wasserdampfgehalt der Luft noch in Rechnung zu setzen ist. Auch in den extremen Außentemperaturen blieb während einer zum Zwecke der Akklimatisation vorgeschalteten Vorperiode von 5 Stunden die Körpertemperatur konstant, zeigte insbesondere bei den höheren Außentemperaturen keinen Anstieg, sondern paradoxerweise eine leichte Tendenz zum Fallen, wenigstens in den ersten Stunden. Die Reihenfolge der Versuche entspricht selbstverständlich nicht dem Gang der Außentemperaturen, sondern wurde so gewählt, daß abwechselnd höhere, mittlere und tiefere Temperaturen zur Anwendung kamen. Die Cardiazoldosis betrug 28 mg/kg. Das Ergebnis zeigt Tabelle 2.

Tabelle 2. Kaninchen 148, ♂, 2,8—3,1 kg.

Außentemperatur	Zahl der Versuche	Abfall der Körpertemperatur nach 28 mg/kg Cardiazol um	Außentemperatur	Zahl der Versuche	Abfall der Körpertemperatur nach 28 mg/kg Cardiazol um
4°	1	2,6°	25°	1	0,4°
10	1	2,3	28	1	1,2
15 bis 20	5	1,6 bis 1,7	29	1	0,5
23	1	1,2	30	1	0,9
25	1	1,3			

Tabelle 2 läßt keinen Zweifel darüber, daß mit zunehmender Außentemperatur die Cardiazolwirkung abnimmt und daß den tiefsten Außentemperaturen auch die stärksten Grade der Temperatursenkung entsprechen. An dieser Abhängigkeit der Kühlwirkung des Cardiazols von der Außentemperatur ändern auch nichts die kleinen

[14] Harnack, E., u. J. Starke: Naunyn-Schmiedebergs Arch. 45, 447 (1901)

Unregelmäßigkeiten, die in dem Gang der Ausschläge von 23° aufwärts zum Vorschein kommen. Selbst wenn man den bei 30° erhaltenen Temperaturabfall von 0,9° als den Minimalwert ansieht, so beträgt dieser noch immer nur ein Drittel des bei 4° erhaltenen Ausschlags.

Wir haben diese Versuche insbesondere deshalb ausgeführt, weil sie einige zur Aufklärung der Kühlwirkung zentralerregender Stoffe wichtige Fragen berühren. Schon in den Arbeiten Harnacks[4] und seiner Mitarbeiter wird erörtert, ob Hemmung der Wärmebildung oder Steigerung der Wärmeabgabe der maßgebliche Faktor ist, der dem Temperatureffekt der zentralen Kühlgifte zugrunde liegt. Diese älteren Autoren neigten in ihren späteren Arbeiten mehr dazu, den physikalischen Faktoren die Hauptbedeutung zuzusprechen. Unter ihren Beweisgründen findet sich bereits die Feststellung, daß die Kühlwirkung des Natrium santoninicum im Wärmekasten von 26—28° sogar völlig aufgehoben wird (Harnack, Damm und Starke[15]). Die Sachlage ist aber nicht eindeutig, da in neuerer Zeit Rosenthal, Licht und Lauterbach[16] mit Pikrotoxin deutliche Temperatursenkungen trotz eingetretener Zeichen von Wärmestauung bei Temperaturen von 28—29° erhalten haben und dementsprechend die Bedeutung physikalischer Faktoren für das Zustandekommen der Temperatursenkung stark abzuschwächen bzw. zu leugnen versuchen (Licht[17]). Unsere Befunde führen zu einem vermittelnden Standpunkt, da sicherlich selbst bei 30° noch eine deutliche Temperatursenkung durch Cardiazol zu erzielen ist, andererseits aber in einem weiten Temperaturbereich, in dem Wärmestauungen nicht in Frage kommen, eine deutliche Abhängigkeit von der Außentemperatur besteht. Die daraus zu ziehende Schlußfolgerung kann dementsprechend nur die Annahme einer wesentlichen Bedeutung physikalischer Faktoren für die Kühlwirkung zentraler Krampfgifte sein, womit freilich die unterstützende Teilnahme von Vorgängen, die auf dem Gebiet der chemischen Wärmeregulation liegen, nicht ausgeschlossen sei.

An der Bedeutung der physikalischen Faktoren kann ja auch schon im Hinblick auf die erhebliche Steigerung der Atemfrequenz kein Zweifel bestehen. Genaue Messungen der Atemfrequenz in unseren Versuchen ergeben, wie die Tabelle 1 zeigt, daß die Atemfrequenz erst dann wieder normale Werte erreicht, wenn die Temperatursenkung wieder in erheblichem Grade zurückgegangen ist. Doch zeigt die Atemfrequenzsteigerung keinen völlig parallelen Verlauf mit der Temperaturkurve, da sie bereits vor dem Tiefpunkt der Körpertemperatur ihr Maximum erreicht und bei noch bestehender Temperaturerniedrigung bereits abgeschlossen ist. Dieses Nachhinken der Temperatursenkung kann man, sofern man

---

[15] Harnack, E., H. Damm u. J. Starke: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **45**, 272 (1901). — [16] Rosenthal, F., H. Licht u. Fr. Lauterbach: Ebenda **106**, 233 (1925). — [17] Licht, H.: Ebenda **121**, 320 (1927).

nicht nach anderen Erklärungsmöglichkeiten suchen will, als einen Beweis für die Mitbeteiligung anderer Faktoren an der Kühlwirkung des Cardiazols ansehen. Aber auch diese sind nicht zuletzt wiederum auf dem Gebiet der physikalischen Wärmeregulation zu suchen. Auch hier sind die maßgeblichen Beobachtungen schon in den alten Versuchen von Harnack, Damm und Starke[15] mit Santonin enthalten. Es handelt sich um zwei Faktoren, die von wärmeregulatorischer Bedeutung für das Kaninchen sind: Ohrgefäßerweiterung und ausgestreckte Körperhaltung. Wiederum versuchen Rosenthal, Licht und Lauterbach[16] die Bedeutung der einen dieser beiden Erscheinungen (Ohrgefäßerweiterung) für die Pikrotoxinwirkung mehr oder weniger in Abrede zu stellen, während sie die eigentümliche Körperhaltung überhaupt nicht erwähnen. Sie schreiben von der Dilatation der Ohrgefäße, daß sie nur selten und dann nur schwach in Aktion träte. Wir haben zumindest in allen Versuchen, die eine kräftige Temperatursenkung ergaben, auch eine einwandfreie Ohrgefäßerweiterung beobachtet, und bestätigen damit die alten Beobachtungen Harnacks, indem wir sie zugleich auf das Gebiet der Cardiazolwirkung übertragen. Wir stellten ferner fest, daß die Ohrgefäßerweiterung zeitlich in die Phase des Temperaturabfalls fällt und dann, noch ehe die Temperatur wieder meßbar anzusteigen beginnt, wieder verschwindet, woraus ein Kausalzusammenhang offenbar wird. Wir müssen daher annehmen, daß diese Erscheinung an dem Zustandekommen der Kühlwirkung zentralerregender Stoffe (auch des Pikrotoxins, wie eigene Beobachtungen lehrten) beteiligt ist. In welchem Maße das der Fall ist, hängt ab von der Bedeutung, die man der Ohrgefäßerweiterung im Rahmen der gesamten Wärmeregulation zusprechen will und die nach manchen Autoren besonders groß sein soll (Plaut[18]).

Die in den Arbeiten von Harnack[15] nur einmal und in den Arbeiten anderer Autoren anscheinend kaum gewürdigte eigentümliche Körperhaltung nach Santonin ist nach unseren Erfahrungen auch ein konstantes Phänomen der Cardiazol- wie auch der Pikrotoxinvergiftung mit temperaturherabsetzenden Dosen. Sie fehlt, wie noch erwähnt werden wird, bei Krampfgiften mit temperatursteigernder Wirkung. Auch dieser Vorgang dient durch Vergrößerung der Körperoberfläche der vermehrten Wärmeabgabe und findet sich dementsprechend auch wiederum nur in der Phase des sich vollziehenden Temperatursturzes. Um daher diese unserer Meinung nach recht interessante Beobachtung nicht in Vergessenheit geraten zu lassen, soll sie in der Abb. 1 auch durch Wiedergabe von Photographien belegt werden.

Die Hervorhebung der letzten Erscheinung geschieht nicht zuletzt deshalb, um im Verein mit den vorerwähnten Momenten die Vielfalt der Vorgänge zu betonen, die an dem Zustandekommen der Kühlwirkung

[18] Plaut, R.: Pflügers Arch. **205**, 51 (1924).

beteiligt sind. Trotzdem aber ist die Möglichkeit einer einheitlichen Auffassung des Gesamtvorgangs gegeben und die ablehnende Haltung gegenüber einer Bevorzugung irgendeines einzelnen Vorgangs ermöglicht darüber hinaus sogar interessante Schlußfolgerungen. Offenbar ist es ein ganzes Funktionssystem, das unter Kühlgiftwirkung in Aktion tritt. In diesem System sind die funktionell den verschiedenartigsten Gebieten (Atmung, Kreislauf, Körperstellung und möglicherweise auch Stoffwechsel) angehörigen Einzelleistungen des Zentralnervensystems mit dem einen Ziel der Herabsetzung der Körpertemperatur zusammengefaßt. Längst bekannte Tatsachen lehren aber, daß dies das gleiche System ist, welches Kaninchen bei hoher Außentemperatur vor Überhitzung schützt (Abb. 1).

Abb. 1. Haltung des Kaninchens 148.
a) Normale Haltung (bei 20°). b) Haltung $^1/_2$ Stunde nach Injektion von 28 mg/kg Cardiazol (bei 20°). c) Haltung ohne Cardiazol bei einer Raumtemperatur von 35°. d) Haltung 1 Stunde nach Injektion von 230 mg/kg Coramin (bei 20°).

Das hat schon Harnack[15] im Hinblick auf das Santonin hervorgehoben und seine Sätze können wir wortwörtlich auf das Gebiet der Cardiazol- und auch Pikrotoxinwirkung übertragen. Wenn wir also gegenüber neueren Ablehnungsversuchen wieder mehr im Sinne Harnacks die Bedeutung physikalischer Faktoren für die zentralausgelöste Kühlgiftwirkung hervorheben, ohne die etwaige Bedeutung chemischer Faktoren leugnen zu wollen, so ermöglicht uns dies allein, für den Mechanismus der beschriebenen Krampfgiftwirkung den Anschluß zu finden an physiologisch bedeutungsvolle Vorgänge im Zentralnervensystem.

b) Ergebnis der Coraminversuche.

Die Erwartung, daß sich das Coramin anders als das Cardiazol verhalten könne, wurde in vollem Umfange bestätigt. Die Wirkung des Coramins ist eine dem Cardiazol völlig entgegengesetzte und besteht somit in einer Temperaturheraufsetzung. Diese Wirkung ist wiederum nicht an das Auftreten von Krämpfen gebunden. Schon nach intravenöser Injektion (45—70 mg/kg) haben wir diesen Effekt nachweisen können. Nach subcutaner Zufuhr der halben subcutanen Krampfdosis (die Krampfdosis mit 300 mg/kg angenommen) erhielten wir in 8 Versuchen an 8 verschiedenen Tieren viermal Temperatursteigerungen von 0,5—0,6° und zweimal noch höhere (1 und 1,3°). Bei höherer Dosierung (180—300 mg/kg) betrugen in 11 Versuchen die Temperaturausschläge 0,65—1,8°. Die Gesamtzahl der Tiere war 12, das Gewicht 2,8—4,3 kg.

Über den zeitlichen Verlauf orientiert das Versuchsbeispiel der Tabelle 1, Spalte V. Es handelt sich also hier um einen Versuch an dem gleichen Tier, an dem wir die Kühlwirkung des Cardiazols demonstriert haben. Derartige vergleichende Versuche an einem Tier haben wir wiederholt vorgenommen. Aus der Tabelle geht hervor, daß sich die Coraminwirkung etwas langsamer als die entgegengesetzte Cardiazolwirkung entwickelt und auch länger anhält.

Das Coramin ist also einer ganz anderen Gruppe von Krampfgiften als das Cardiazol einzureihen. Es ist dies die Gruppe, zu der Cocain, Tetrahydronaphthylamin und Coffein gehören. Zur Aufklärung dieses gegensätzlichen Verhaltens von Coramin und Cardiazol sind folgende Beobachtungen von Wert. Auffallend ist vor allem neben einer gewissen Unruhe der Tiere das Vorhandensein eines deutlichen Muskelzitterns, das sich gelegentlich sogar bis zu kurzen, wiederholten schauerartigen Anfällen steigert, die unter Streckung der Extremitäten auftreten. Diese Muskelbefunde weisen auf das wesentliche Moment des unterschiedlichen Verhaltens von Cardiazol und Coramin hin: es ist die gesteigerte Wärmebildung, für die vor allem die Muskulatur in Frage kommt, welche die Temperatursteigerung unter Coramin erklärt. Viel weniger mögen Unterschiede auf der physikalischen Seite der Wärmeregulation zu dem beschriebenen Gegensatz beizutragen. Denn vor allem auf seiten der Atmung fehlt ein nennenswerter Gegensatz, da die Tachypnoe auch eine Folge der Coraminwirkung ist. Doch fällt allerdings auf, daß die Atemfrequenz unter Coramin nicht das gleiche Ausmaß von Steigerung erfährt wie unter Cardiazol. Sodann fehlt die ausgestreckte Körperhaltung unter Coramin (Abb. 1). Die Erweiterung der Ohrgefäße schließlich ist unter Coramin von uns nur gelegentlich als flüchtigere Erscheinung nach bereits eingetretener Temperatursteigerung beobachtet worden und kann somit als eine gegenregulatorische Maßnahme des Organismus erklärt werden.

Es sind also in erster Linie Vorgänge auf seiten der Wärmebildung, die zur Erklärung des unterschiedlichen Verhaltens von Coramin und Cardiazol beitragen, während von den Vorgängen auf der Seite der physikalischen Wärmeregulation nur einige in gleichem Sinne unterstützend mitwirken.

Nach einer von H. H. Meyer[10] inaugurierten Auffassung über das Zustandekommen der Temperaturwirkung zentraler Krampfgifte müßten auch unterschiedliche Einwirkungen von Cardiazol und Coramin auf das vegetative Nervensystem zu erwarten sein. Es müßte das Cardiazol als zentrales Parasympathicusgift und das Coramin als zentrales Sympathicusgift aufgefaßt werden. Nun haben allerdings schon Rosenthal, Licht und Lauterbach[16] der Gleichsetzung von zentralen Kühlgiften mit zentralen Parasympathicusgiften widersprochen, da sie während der Temperatursenkung eine Blutzuckersteigerung als sympathisches Erregungsphänomen fanden. Es ist auch bekannt, daß Cardiazol den Blut-

zucker steigert. Immerhin wäre noch denkbar gewesen, daß Coramin und Cardiazol unterschiedlich stark auf den Blutzucker einwirkten. Wir haben aber in vergleichenden Untersuchungen an normalen (wie auch narkotisierten) Kaninchen keinen Unterschied in der Blutzuckerwirkung äquivalenter Dosen (d. h. äquivalent in bezug auf die Krampfdosen am normalen Tier) finden können.

c) Ergebnis der Versuche mit Neospiran und Cycliton.

Es handelt sich hier nur um einige orientierende Versuche, aus denen aber hervorgeht, daß auch diese beiden Analeptica wie Coramin zu den temperatursteigernden Krampfgiften zu rechnen sind. In drei Versuchen mit 10, 15 und 20 mg/kg Neospiran (subcutan) betrug der Temperaturanstieg entsprechend der Dosierung 0,5, 1,3 und 1,7°. Bei der höchsten Dosis trat unter Krämpfen nach 35 Minuten der Tod ein. Cycliton führte in einer Dosis von 75 mg/kg zu einer Temperatursteigerung von 0,7°. Nach 120 mg/kg erhöhte sich unter Krämpfen mit tödlichem Ausgang die Temperatur um 2,2°, während in einem Versuch mit 100 mg eigentümlicherweise der Temperaturanstieg ausblieb.

II. Versuche an narkotisierten Kaninchen.

In diesen Versuchen diente als Narkoticum „Numal Roche". Wir hatten dieses Narkoticum zufällig in einigen orientierenden Vorversuchen geprüft und als sehr geeignet für die geplanten Versuche gefunden, weshalb wir es beibehielten trotz des berechtigten Einwandes, daß es für die menschliche Medizin keine Verwendung findet. Denn es kommt in der vorliegenden Arbeit zunächst nur auf die Feststellung gewisser grundsätzlicher Fragen über die Wirkung der Analeptica in der Narkose an. Wir gaben das Numal in Dosen von 0,5—0,7 ccm der 10%igen Lösung pro kg intravenös. Die Tiere wurden in einem Versuchsraum bei 20° Temperatur in Drahtkäfigen ohne Schutz vor Wärmeverlust aufbewahrt. Die Temperaturmessungen wurden in den ersten Versuchsstadien in $^1/_2$stündigen, später in 1stündigen Intervallen vorgenommen.

Der Temperaturabfall beträgt in den einzelnen Versuchen weniger als 3 bis etwas mehr als 6°. Der Tiefpunkt liegt in der Mehrzahl unserer Versuche zwischen der 3. und 5. Stunde nach dem Narkosebeginn, in Fällen leichterer Narkose jedoch auch schon früher. Bald nach Erreichung des Tiefpunktes kehrt die Temperatur allmählich wieder zur Norm zurück, wiederum im Verlauf von mehreren Stunden. Die Einzelheiten ergeben sich aus den später zu besprechenden Abbildungen.

In allen Fällen trat vollständige Seitenlage ein. Die erreichte Narkosetiefe entsprach durchschnittlich dem Stadium 4 des Girndtschen[19] Schemas, mit Übergängen zum Stadium 3 oder 5. Zur Prüfung der Weckwirkung haben wir davon Abstand genommen, eine laufende Kontrolle der Körperstell- und Labyrinthreflexe vorzunehmen, weil wir fürchteten, es könnten die wiederholt vorgenommenen Prüfungen, vor allem durch die damit verbundenen Weckreize, Einfluß auf den Temperaturablauf gewinnen. Wir hielten uns daher an die spontan eingenommenen Körperstellungen. Es ergeben sich dann als charakteristische Körperstellungen: Seitenlage, Kopf in Normalstellung, Vorderkörper aufgerichtet, schlaffe aufrechte

[19] Girndt, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **164**, 118 (1932).

Haltung (Bauchlage), Normalstellung. Wir sind uns dabei der Richtigkeit des Girndtschen[19] Einwandes bewußt, daß Reflexbefund und Körperstellung nicht völlig parallel gehen, finden aber nachträglich eine Rechtfertigung in den Versuchen Thauers[12], der in der gleichen Weise vorgegangen ist. Thauer hebt vor allem hervor, daß für die Körpertemperatur nicht so sehr der Reflexbefund als die spontan beibehaltene Körperhaltung von Bedeutung sein könne. Unser Vorgehen ist trotzdem nur eine grobe Schätzung und leidet ferner darunter, daß feinere Übergänge nicht erfaßt werden und daß auch der zeitliche Wechsel zwischen den einzelnen Stadien nicht scharf erfaßt werden kann. Darum wurden von vornherein auch die Registrierungen der Körperstellungen nur zu gleicher Zeit mit den Temperaturmessungen, also in $^1/_2$- oder 1stündigen Intervallen, vorgenommen. Der tatsächliche Wechsel fällt also mehr oder weniger in die einzelnen Intervalle. Außerdem ist zu berücksichtigen, daß bei diesem Vorgehen rasch durchlaufene Narkosestadien nicht erfaßt wurden. Im Rahmen unserer Versuchsanordnung und Fragestellung ergab aber der eingeschlagene Weg Befunde von ausreichender Klarheit.

Neben der Körperstellung wurde noch die Atemfrequenz bestimmt.

Aus bestimmten Beobachtungen und Reflexbestimmungen, auf die hier nicht eingegangen zu werden braucht, ging hervor, daß der Tiefpunkt der Narkose nicht mit dem Tiefpunkt der Körpertemperatur zusammenfällt, sondern diesem vorauseilt. Diese Beobachtung war von Wichtigkeit für die passende Wahl des Zeitpunktes, an dem das Analepticum gegeben werden sollte. Es mußte unser Ziel sein, den analeptischen Effekt bei möglichst tiefer Körpertemperatur und bei noch möglichst tiefer Narkose zur Darstellung zu bringen. Bei den im folgenden zu besprechenden Versuchen (bei mittleren und tieferen Narkosegraden) war dieser Zeitpunkt nach 2 Stunden vom Augenblick des Narkosebeginns an gegeben. Die Körpertemperatur hat in diesem Moment ihren Hauptsturz vollzogen, ohne jedoch schon ihr Minimum erreicht zu haben.

Im ganzen wurden 11 Kaninchen herangezogen. An jedem Tier wurden vergleichend unter Zugrundelegung von Dosen, die zueinander im Verhältnis der Krampfdosen standen, mehrere Analeptica geprüft. Begonnen wurde mit einem Kontrollversuch, in dem der Temperaturverlauf und das Erwachen ohne Einwirkung eines Analepticums festgestellt wurde. Den Abschluß bildete wiederum ein Kontrollversuch. Zwischen den einzelnen Versuchen lag ein Intervall von durchschnittlich 14 Tagen. Voraussetzung für die Vergleichbarkeit der Befunde war eine möglichst konstante Narkoseempfindlichkeit der Tiere, die insbesondere nach Ausführung zu vieler Versuche nicht immer gewährleistet war. Es gelang, derartige Empfindlichkeitsänderungen durch Einschaltung größerer Versuchspausen oft wieder zum Verschwinden zu bringen. Als Maß für die Konstanz der Reaktionsfähigkeit kann die nach 2 Stunden eingetretene Temperatursenkung dienen. Wo größere Empfindlichkeitsschwankungen gegenüber der Narkose auftraten, sind diese bei der Auswertung der Versuchsergebnisse berücksichtigt.

Im folgenden geben wir einen Ausschnitt aus unseren insgesamt 88 Einzelversuchen in kurvenmäßiger Darstellung wieder. Den Kurven liegen nicht die absoluten Temperaturbeträge zugrunde, sondern die Differenzwerte zwischen den gemessenen Werten und der Ausgangstemperatur. Die Kurven beginnen 2 Stunden nach Narkosebeginn, also mit dem Augenblick, wo das Analepticum einverleibt wurde. Den Verlauf des Erwachens geben wir durch Markierungen, die an den Kurven angebracht sind, wieder. Dabei wurde jeweils nur die eingetretene Veränderung berücksichtigt. Es bedeutet somit das Fehlen eines Zeichens zu Beginn der Kurve, daß völlige Seitenlage besteht. Wenn jedoch nach einer eingetretenen Veränderung bei den folgenden Temperaturablesungen wiederum keine Zeichen angebracht sind, so bedeutet dies, daß das vorher erreichte Narkosestadium geblieben ist.

Die Markierungszeichen bedeuten:

| Kopf in Normalstellung.
○ Vorderkörper aufrecht.
△ Bauchlage.
□ Normalstellung.
K Krämpfe.

Die Reihenfolge, in der die einzelnen Analeptica angewendet wurden, entsprechen der Reihenfolge, mit der die Dosierungsgrößen in den Abbildungen angegeben sind. Zur Unterscheidung gleichartiger Versuche dienen römische Ziffern an den Kurven.

a) Ergebnis der Cardiazolversuche.

Als wirksam wurden bei subcutaner Zufuhr Cardiazoldosen gefunden, die das $1^1/_2$- bis 3fache der subcutanen Krampfdosis des normalen Tieres (35 mg/kg) betrugen. Alle in Abb. 2—6 wiedergegebenen Versuche lassen

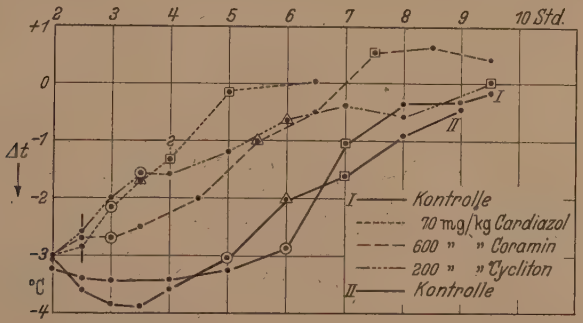


Abb. 2. Kaninchen 130, ♂, 2,95—3,25 kg. 0,6 ccm/kg. 10 % Numal.

ein nahezu gleichartiges Verhalten der Körpertemperatur unter Cardiazol erkennen. Während in den Kontrollversuchen die Körpertemperatur noch weiter abfällt, steigt sie unmittelbar nach der Cardiazolinjektion wieder an, um in einem zunächst mehr oder weniger steilen und dann allmählich flacher werdenden Kurvenverlauf sich der Norm zu nähern. Im Gegensatz zu den meisten Kontrollversuchen kommt es dabei in der Mehrzahl der Fälle noch innerhalb der wiedergegebenen Beobachtungszeit zu einem völligen Ausgleich der narkotischen Temperatursenkung. Die Restitution der Körpertemperatur eilt dabei der spontanen Erholung meist um mehrere Stunden voraus. Der Unterschied ist da am exaktesten wiedergegeben, wo in den Abbildungen Cardiazolkurve und Kontrollkurve bei etwa dem gleichen Grad von Temperatursenkung ihren Ausgang nehmen.

Eine besondere Besprechung bedarf der Versuch der Abb. 3. Hier wurden zunächst die drei oberen Versuche, einige Monate später die vier unteren Versuche durchgeführt. Die Narkoseempfindlichkeit des Tieres hatte (bei gleichzeitiger Gewichtsabnahme) in der Zwischenzeit erheblich zugenommen, während sie innerhalb der beiden Versuchsperioden konstant blieb. Daher ist nur der Vergleich einer Cardiazolkurve mit der entsprechen-

den Kontrollkurve zulässig. Der Unterschied zwischen Kontroll- und Cardiazolkurve ist in beiden Versuchsabschnitten als ziemlich gleich anzusehen. Eine geringe Verschlechterung der Cardiazolwirkung im unteren Abschnitt besteht jedoch.

Zusammenfassend ergibt sich also, daß am narkotisierten Tier das Cardiazol in Dosen, die in den wiedergegebenen Versuchen das Zwei- bis Dreifache der an normalen Tieren krampfauslösenden Dosen und ein noch größeres Vielfaches der an normalen Tieren schon temperaturherabsetzend wirkenden Dosen betragen, keine Kühlwirkung mehr erkennen läßt, sondern in ausgesprochenem Maße temperatursteigernd wirkt und in kurzer Zeit den narkotischen Temperatursturz zu beseitigen vermag.

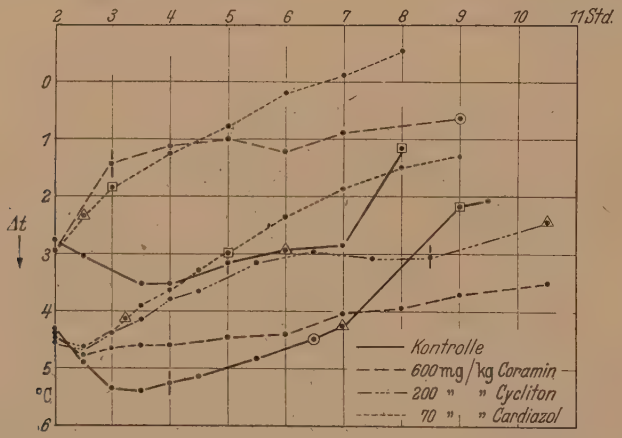


Abb. 3. Kaninchen 24, ♂. Oben 3,8—4,0 kg, unten 3,3—3,5 kg. 0,5 ccm/kg. 10 % Numal.

Trotz der hohen Dosen blieben in der Narkose die Krämpfe aus. Mit 0,6 ccm/kg Numal war noch die Krampfwirkung einer die normale Krampfdosis um das Fünffache übersteigenden Dosis aufgehoben.

Der Einblick in das Wesen der temperatursteigernden Cardiazolwirkung wird uns nun durch Berücksichtigung der Weckwirkung ermöglicht. Alle Versuche haben übereinstimmend ergeben, daß mit der Restitution der normalen Körpertemperatur auch eine Wiederherstellung der normalen Körperstellung verbunden ist. Der ganze Prozeß des Erwachens vollzieht sich stufenweise in der Phase des Temperaturanstiegs und ist beendet, noch bevor der Temperatursturz restlos ausgeglichen ist. Wenn wir nun hiermit das Verhalten von Temperatur und Aufwachen bei spontaner Erholung vergleichen, so ergibt sich ein weitgehend übereinstimmendes Verhalten. Auch hier geht — nur in einem späteren Versuchsstadium — während des Temperaturanstiegs das Aufwachen vor sich, angefangen von dem ersten Aufrichten des Kopfes

bis zu der normalen Haltung, und ist abgeschlossen, bevor die Temperatur ihren Ausgangswert erreicht hat.

Wir dürfen daraus schließen, daß Aufwachen und Temperaturanstieg beim Cardiazolweckversuch die gleiche Art der zeitlichen Koppelung aufweisen wie bei spontaner Erholung aus der Narkose. Hier wie dort läuft der Temperaturanstieg etwas hinter dem Aufwachen her, so daß der erstere Prozeß erst später zum Abschluß kommt. Diese Feststellung kann nicht etwa im Sinne eines selbständigen Verhaltens der Wärmeregulation gedeutet werden, sondern ist die Folge davon, daß sich die Körpertemperatur nicht rasch genug auf die dem jeweiligen Grad des Erwachens entsprechende Höhe einstellen kann. Die gleiche Trägheit des Temperaturverlaufs findet auch Thauer[12] in den Beziehungen zwischen Temperatursturz und Erreichen einer bestimmten Narkosetiefe. Aus unseren Versuchen geht auch hervor, daß sich während des Erwachens die Verzögerung des Temperaturanstiegs um so stärker bemerkbar macht, je tiefer die Temperatur abgefallen war. Vergleicht man in dieser Hinsicht die obere und untere Versuchsserie in Abb. 3, so ergibt sich, daß die gleiche Feststellung sowohl für das spontane wie das durch Cardiazol erzwungene Erwachen zutrifft. Bei völliger Übereinstimmung zwischen Cardiazol- und Kontrollversuch wäre auch zu erwarten, daß sich die einzelnen Stadien des Erwachens in beiden Fällen stets auf der gleichen Temperaturhöhe einstellen. Wenn dies in unseren Versuchen nur annähernd der Fall ist, so sind die bestehenden Abweichungen im wesentlichen nur dadurch bedingt, daß die Zeitpunkte, an denen sich der Wechsel der einzelnen Stadien vollzog, nicht exakt registriert wurden.

Wir kommen also zu dem Ergebnis, daß sich der Temperaturanstieg in der Narkose unter der Wirkung des Cardiazols unter den gleichen Bedingungen vollzieht wie beim spontanen Erwachen. Diese sind charakterisiert durch die enge Bindung an die Wiederherstellung des normalen Zustandsbildes auf dem somatischen Gebiet. Folgen wir den Auffassungen Thauers[12] über die Beziehungen zwischen narkotischem Temperatursturz und konzentrischer Einengung der gesamten Lebensprozesse, so ergibt sich, daß die Temperaturwirkung des Cardiazols ausschließlich die Folge seiner allgemeinen Weckwirkung ist und besondere, dem Cardiazol eigentümliche selektive Einwirkungen auf den Wärmehaushalt in der Narkose — sei es im fördernden oder hemmenden Sinne, letzteres etwa als Ausdruck einer Kühlwirkung des Cardiazols — nicht in Betracht kommen.

Berücksichtigt man die Bedingungen, unter denen am Normaltier die Kühlwirkung des Cardiazols zustande kommt, so ist der Ausfall dieser Wirkung in der Narkose ohne weiteres verständlich. Die Wirkung auf die Atemfrequenz beschränkt sich lediglich in der Wiederherstellung normaler Werte, nachdem die Frequenz in der Narkose abgesunken war (in unseren Versuchen auf 12—21 pro Minute). Die Wirkung auf die

Körperhaltung läuft in völlig gegensätzlicher Richtung als am Normaltier; es wird die Körperhaltung des narkotisierten Tieres in die Normalstellung übergeführt, bei der die Bedingungen für eine Wärmeabgabe am ungünstigsten sind. Schließlich kann sich auch die Wiederherstellung eines normalen Kreislaufzustandes nur im günstigen Sinne auf den Wärmehaushalt auswirken, wobei insbesondere auf das Ausbleiben einer Dilatation der Ohrgefäße hingewiesen werden muß.

b) Ergebnis der Coraminversuche.

Die Coramindosen entsprachen den Cardiazoldosen, indem ebenfalls die $1^1/_2$—3fache Dosis der subcutanen Krampfdosis des normalen Tieres (300 mg/kg) gegeben wurde. Fassen wir zunächst das übereinstimmende Ergebnis aller Versuche zusammen, so ergibt sich wiederum ein günstiger Einfluß auf die Körpertemperatur des narkotisierten Tieres. Mit dem Einsetzen der Coraminwirkung wird der weitere Temperatursturz verhindert und macht einer Temperatursteigerung Platz. Was aber ebenfalls aus allen Versuchen, die in den Abb. 2—6 wiedergegeben sind, hervorgeht, ist die Tatsache, daß diese Wirkung deutlich hinter der gleichen Wirkung des Cardiazols zurückbleibt. Darüber hinaus ergeben sich aber noch eine Reihe von Besonderheiten, die eine genauere Besprechung der einzelnen Versuche nötig machen.

Die beste Wirkung zeigte das Coramin im Versuch der Abb. 2. Zwar sehen wir auch hier noch eine deutliche Unterlegenheit gegenüber dem Cardiazolversuch. Aber es besteht doch eine weitgehende Ähnlichkeit beider Effekte, da auch durch Coramin der Gesamtverlauf der Temperaturremission im Vergleich zu den Kontrollkurven eine wesentliche Abkürzung erfährt.

In den nunmehr zu besprechenden Versuchen ist diese günstige Coraminwirkung nur auf die Anfangsstadien beschränkt und macht später einer ungünstigen Wirkung auf die Temperatur Platz. Diese Tatsache kommt deutlich in den beiden Coraminversuchen der Abb. 3 zum Ausdruck. In der oberen Kurve steigt zunächst die Temperatur noch etwas steiler an als unter Cardiazol, alsdann aber nimmt die Kurve noch vor Erreichen des Ausgangswertes einen nahezu horizontalen Verlauf, während die Cardiazolkurve weiter nach oben verläuft. Noch größer ist der Unterschied bei der unteren Coraminkurve. Hier verhindert zwar das Coramin einen weiteren Temperaturabfall. Aber ein erheblicher Temperaturanstieg wird danach nicht erreicht. Das Bemerkenswerteste aber ist, daß die Coraminkurve auf einem sehr niedrigen Niveau sogar die Kontrollkurve schneidet, was bedeutet, daß der Temperaturkollaps eine wesentliche Verlängerung erfährt. Etwa zwischen diesen beiden Extremen liegt das Ergebnis des Coraminversuchs in Abb. 4 (Coraminkurve I). Nach einem anfänglich etwas steileren Verlauf steigt die Temperatur über viele Stunden hin nur

sehr langsam an, um schließlich im Vergleich zu den Kontrollversuchen nicht nur wiederum eine Verzögerung der endgültigen Erholung, sondern sogar eine Tendenz zum Wiederabfall erkennen zu lassen. Die wesentliche Überlegenheit des Cardiazols findet in diesem Beispiel ihren besonders prägnanten Ausdruck durch die Tatsache, daß die Cardiazolkurve trotz der sehr viel niedrigeren Ausgangsbasis steil ansteigt und schon nach kurzer Zeit die Coraminkurve in steilem Verlaufe durchkreuzt.

Zusammenfassend ergibt sich also für den Unterschied der Cardiazol- und Coraminwirkung, daß nicht nur eine quantitative Unterlegenheit des Coramins besteht, sondern daß auch eine ausgesprochen schädliche Temperaturwirkung des Coramins nachzuweisen ist, die nach einem anfänglichen unvollkommen bleibenden günstigen Effekt

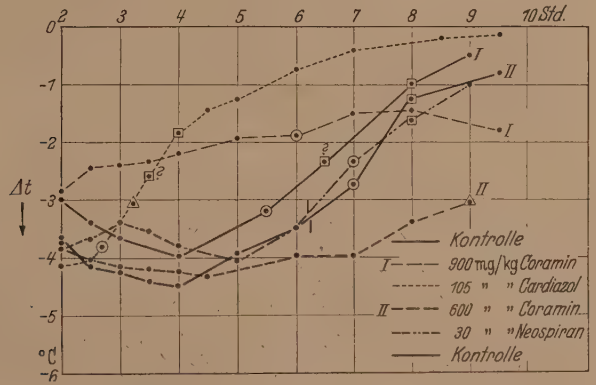


Abb. 4. Kaninchen 104, ♀. 2,95—3,3 kg. 0,7 ccm/kg. 10 % Numal.

in der späteren Phase sogar zu einer Verlängerung des bestehenden Temperaturkollaps führt. Diese quantitative wie qualitative Unterlegenheit des Coramins prägt sich offenbar um so stärker aus, je tiefer der narkotische Temperatursturz war, der der Injektion des Coramins vorausging, wie Abb. 3 erkennen läßt. Das Cardiazol zeigt im Vergleich hierzu eine viel geringere Abhängigkeit seiner Wirksamkeit von dem Ausmaß der Temperatursenkung, wenn sie auch selbstverständlich nicht vollkommen fehlt. Relativ günstige Coraminwirkungen wie in Abb. 2 zeigten sich sonst nur noch in einigen hier nicht aufgeführten Versuchen mit sehr geringer narkotischer Temperatursenkung.

Die vor allem an tiefere Narkosegrade gebundene schädliche Wirkung des Coramins auf den Temperaturkollaps ist auch bei Verkleinerung der Dosis noch nachweisbar, wie die Coraminkurve II der Abb. 4 erkennen läßt. Es verschwindet dabei lediglich der temperatursteigernde Effekt. Nach oben ist die mögliche Dosierungsbreite eingeengt durch die Krampfgefahr. Die Heraufsetzung der Krampfschwelle durch die Narkose ist zwar auch für Coramin nachweisbar, aber in geringerem Maße als für

Cardiazol. So wurden in dem Versuch der Abb. 5 durch die dreifach normale Krampfdosis Krämpfe ausgelöst. Der Einfluß dieser Krämpfe besteht in einer abrupten Temperatursteigerung während der Dauer der Krämpfe, danach Wiederabfall der Temperatur mit anschließender verlängerter Erholungsdauer.

Wenn dagegen eine kleinere Coramindosis kombiniert wird mit einer kleineren Cardiazoldosis, so gelingt es mitunter, den gleichen Temperatureffekt zu erzielen, wie mit einer größeren Cardiazoldosis. So wurde in dem Versuch der Abb. 3 die $1^1/_2$fache normale Krampfdosis des Coramins zusammen mit der entsprechenden Cardiazoldosis gegeben und fast der gleiche Temperatureffekt wie mit der dreifachen normalen Krampfdosis Cardiazol allein erhalten. Aber bei größerer Narkosetiefe (in zwei Versuchen mit 0,8 ccm Numal) war auch die Kombination Cardiazol + Coramin schwächer wirksam als Cardiazol allein in entsprechend höherer Dosierung.

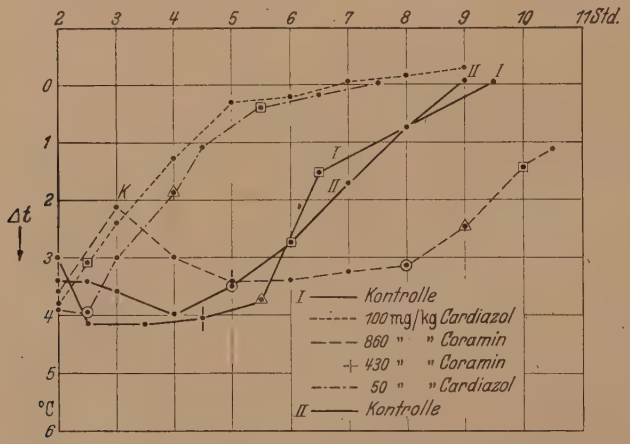


Abb. 5. Kaninchen 21, ♂. 3,2—3,3 kg. 0,6 ccm/kg. 10 % Numal.

Wenn somit die temperatursteigernde Wirkung des Coramins in allen Fällen hinter derjenigen des Cardiazols zurückbleibt, so stellt sich dieses an narkotisierten Tieren erhaltene Ergebnis in Gegensatz zu dem Verhalten beider Stoffe am normalen Tier. Es ließ sich nun leicht nachweisen, daß dieser Befund mit der unterschiedlichen Weckwirkung beider Stoffe zusammenhängt. Die Weckwirkung des Coramins beschränkte sich in allen hier in Betracht kommenden Versuchen lediglich auf die ersten Stadien des Erwachens. Dagegen war die Wiederherstellung des vollständigen Wachzustandes nicht nur nicht beschleunigt, sondern sogar mehr oder weniger verzögert. In dieser Kombination von partiellem Erwachen mit anschließender Verlängerung des narkotischen Zustandes haben wir auf somatischem Gebiet ein Wirkungsbild vor uns, dem qualitativ das Verhalten der Körpertemperatur unter Coramin gleicht.

So naheliegend es daher ist, auch für die temperatursteigernde Wirkung des Coramins ebenfalls die — wenn auch unvollständig bleibende — Weckwirkung verantwortlich zu machen, so bleibt doch zu untersuchen, ob nicht dabei auch die am Normaltier festgestellte Temperaturwirkung des Coramins in der Narkose noch fortwirkt oder ob sie in gleicher Weise wie die Kühlwirkung des Cardiazols aufgehoben ist. Nun ist in der Tat — ähnlich wie es für Tetrahydronaphthylamin nachgewiesen wurde — ein antagonistischer Einfluß der Narkose auf diese besondere Coraminwirkung vorhanden. So fehlt in Abb. 4 selbst bei der doppelten normalen Krampfdosis (600 mg/kg) ein temperatursteigernder Effekt. Andererseits läßt aber der untere Coraminversuch in Abb. 3 erkennen, daß es gelingt, eine geringe Temperaturwirkung (Verhinderung des weiteren Temperaturabfalls) zu erhalten, ohne daß eine Weckwirkung auftritt. Gehen wir schließlich zu höheren Dosen über, bei denen stets eine gewisse Weckwirkung zu verzeichnen ist, so ergibt der Vergleich mit dem Verhalten der Kontroll- wie auch der Cardiazolkurven, daß das Ausmaß der Temperatursteigerung größer ist als es auf Grund der Weckwirkung zu erwarten gewesen wäre. So lehrt z. B. die obere Coraminkurve in Abb. 3, daß trotz des ähnlichen Verlaufs der Coramin- und Cardiazolkurve in den ersten beiden Stunden der Abbildung unter Coramin nur das erste Stadium des Erwachens (Kopfaufrichten), unter Cardiazol dagegen in der gleichen Zeit und im gleichen Temperaturbereich der vollständige Wachzustand erreicht wird. Gegen Schluß des Versuchs erst richtet das Tier den Vorderkörper auf und erreicht damit ein Narkosestadium, das noch immer unter dem auf Grund der gleichzeitig bestehenden Körpertemperatur zu erwartenden liegt. Denn in dem Kontrollversuch erweist sich sogar die Wiederherstellung des Normalzustandes einer niedrigeren Körpertemperatur zugeordnet. In bezug auf den Versuch in Abb. 2 sei hervorgehoben, daß nur die Wiederherstellung der normalen Körpertemperatur, nicht aber die Wiederherstellung der normalen Körperstellung durch Coramin eine Beschleunigung im Vergleich zum Kontrollversuch zu erkennen gibt. Besonders deutlich sind die geschilderten Verhältnisse dort, wo die Coraminkurven die Kontrollkurven schneiden (Abb. 2 unten, Abb. 4), zu erkennen. Denn wir finden hier bei gleicher Körpertemperatur stets eine weitgehende Divergenz im erreichten Wachheitsgrad zuungunsten des Coraminversuchs*.

Wir schließen daraus, daß trotz des antagonistischen Einflusses der Narkose auf die temperatursteigernde Wirkung des Coramins, wie sie am normalen Tier festzustellen ist, diese Wirkung doch bei höherer Dosierung wieder zum Vorschein

* Bemerkenswert ist auch, daß in Abb. 5 durch Kombination von Cardiazol und Coramin wohl fast der gleiche Temperatureffekt, aber nicht der gleiche Weckeffekt wie mit Cardiazol allein (bei entsprechend höherer Dosierung) erzielt wurde.

kommt. Sie addiert sich zu der auf Kosten der Weckwirkung zu setzenden Temperatursteigerung. Auch hier besteht also ein Gegensatz zum Verhalten des Cardiazols, dessen Kühlwirkung in der Narkose bei entsprechender Dosierung aufgehoben ist und nicht mit der auf Kosten der allgemeinen Weckwirkung zu setzenden temperatursteigernden Wirkung interferiert.

Für das Fortbestehen der dem Coramin charakteristischen Temperaturwirkung in der Narkose spricht das äußere Verhalten der Tiere. Denn es finden sich auch in der Narkose die gleichen motorischen Reizerscheinungen sogar noch in größerer Ausprägung wieder. Denn wir fanden stets deutliches Muskelzittern, oft von heftigem klonischen Charakter mit allen Übergangsstufen bis zu ausgesprochenen Krämpfen. Auffallend waren in gewissen Abständen sich wiederholende schauerartige Anfälle von ganz kurzer Dauer (etwa 1 Sekunde). Ein eigentümliches Reizphänomen war ein stets nachweisbarer langsamer Kopf- und Augennystagmus, der lange anhielt. Diese ganzen Reizerscheinungen waren entsprechend dem Temperaturverhalten nur in den ersten Stunden der Versuche nachweisbar.

Trotz der Addition zweier gleichgerichteter Effekte reicht die Temperaturwirkung des Coramins nicht aus, um die auf der weit überlegenen Weckwirkung beruhende temperatursteigernde Wirkung des Cardiazols zu erreichen. In den späteren Versuchsstadien wird die Wirkung des Coramins auf die Temperatur durch die narkoseverlängernde Wirkung bestimmt, die auch zu einer Verlängerung des narkotischen Temperaturkollaps führt.

Nur im Hinblick auf die Atmung war die Weckwirkung des Coramins nicht derjenigen des Cardiazols unterlegen. Es war vielmehr oft eine etwas stärkere Wirkung auf die Atemfrequenz eindeutig festzustellen. Doch wurde dieser Vorteil sehr oft durch störende Einflüsse auf die Atmung wieder aufgehoben. Die Atmung zeigte dann einen röchelnden Charakter und es traten die Zeichen eines beginnenden oder schon manifesten Lungenödems mit Cyanose auf. Diese nicht an die Krampfdosen des narkotisierten Tieres gebundene Wirkung verdient besonders hervorgehoben zu werden. Sie wurde ganz selten auch an nicht narkotisierten Tieren mit Dosen, die ebenfalls noch nicht krampfauslösend wirkten, gefunden.

c) Ergebnis der Versuche mit Cycliton und Neospiran.

Das Verhalten des Cyclitons entspricht weitgehend demjenigen des Coramins. Die Anfangswirkung, die auch hier in einer Temperatursteigerung besteht, ist allerdings gewöhnlich etwas stärker ausgeprägt als bei Coramin (Abb. 2 und 3), aber im späteren Verlauf bleibt auch hier der Effekt hinter der Cardiazolwirkung zurück. Verlängerung der narkotischen Untertemperatur kann ebenfalls beobachtet werden (Abb. 3). In Abb. 6 ist der relativ günstige Effekt im Versuch I mit gleichzeitigen Krämpfen erkauft,

während der Temperatureffekt der kleineren krampffreien Dosis erheblich abfällt. Im Vergleich zum Coramin war überhaupt die Krampfwirkung noch weniger durch die Narkose aufgehoben. Die zum Vergleich festgesetzte normale Krampfdosis war 100 mg/kg, die sicherlich nicht zu hoch gegriffen war, nachdem in drei Vorversuchen an normalen Tieren mit 80, 100 und 120 mg/kg nur die letztere Dosis zu Krämpfen führte. Wiederum bleibt auch der Weckeffekt nicht nur hinter demjenigen des Cardiazols zurück, sondern ist auch geringer als auf Grund der Temperaturwirkung zu erwarten gewesen wäre. Es kommen auch hier motorische Reizzustände für die über die Weckwirkung hinausgehende Temperatursteigerung als Ursache in Frage. In drei der hier abgebildeten Versuche (Abb. 2 und 6)

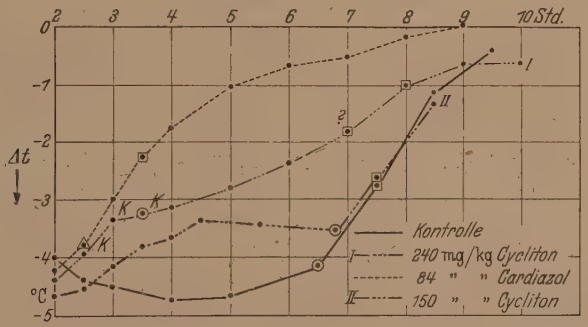


Abb. 6. Kaninchen 58, ♀. 2,6—2,75 kg. 0,6 ccm/kg. 10 % Numal.

setzt sich dieser an die ersten Stadien gebundene Effekt sehr schön durch einen Knick in den Kurven von dem späteren Versuchsverlauf ab. In dem mit der kleineren Dosis durchgeführten Versuch der Abb. 6 ist offenbar die Temperatursteigerung zu Anfang des Versuchs überhaupt nicht durch irgendeine erkennbare allgemeine Weckwirkung bedingt. Der später erneut einsetzende und mit Aufwachen einhergehende Temperaturanstieg beruht wohl nicht mehr auf Cycliton, da der Versuchsverlauf hier vollkommen dem spontanen Erwachen entspricht.

Obwohl in 4 Vorversuchen am normalen Tier die Krampfdosis des Neospirans 20 mg/kg betrug, wurde sie für die folgenden Narkoseversuche mit 15 mg/kg festgesetzt. Trotzdem traten ähnlich wie nach Cycliton bei Verwendung schon der $2^1/_2$fachen normalen Krampfdosis Krämpfe auf. Die Neospiranwirkung war im ganzen flüchtiger als diejenige von Coramin und Cycliton. Im übrigen aber qualitativ identisch. Weckwirkung und Temperatursteigerung bleiben hinter der Cardiazolwirkung zurück. Eine Extrasteigerung der Temperatur, die unabhängig von der Weckwirkung zustande kommt, ist regelmäßig vorhanden. Wiederholt gelang es auch hier, diese Extrasteigerung isoliert, d. h. ohne begleitende Weckwirkung zu erfassen, und zwar in Form einer Anfangserhebung der Temperatur, die später wieder zurückgeht (Abb. 4). Wie in dem Cyclitonversuch der

Abb. 6, bleibt dies der einzige Neospiraneffekt, da der spätere Verlauf der Kurve hinsichtlich Temperatursteigerung und Aufwachen völlig dem Kontrollversuch entspricht.

Eine Verlängerung des narkotischen Temperaturkollapses durch Neospiran war an höhere und daher schon krampfauslösende Dosen gebunden.

In bezug auf die Atmung waren sowohl Neospiran als auch Cycliton wie Coramin meist noch etwas stärker wirksam als äquivalente Dosen von Cardiazol.

III. Zusammenfassende Besprechung der Ergebnisse.

Die Versuche haben ergeben, daß gerade auf dem Gebiet des Wärmehaushaltes besonders markante Unterschiede zwischen Cardiazol und Coramin nachweisbar sind. Der Unterschied ist am auffälligsten bei normalen Tieren, wo durch beide Stoffe sogar ein gegensätzlicher Effekt ausgelöst wird. Diese Feststellung weist daher mit besonderer Deutlichkeit auf die Verschiedenartigkeit der Angriffspunkte beider Stoffe hin. Zur Deutung dieser Wirkungsunterschiede muß man von der Grundfrage ausgehen, ob den beobachteten Effekten Einwirkungen auf den zentralen Regulator des Wärmehaushaltes oder auf die Effektoren des Regulationssystems zugrunde liegen (vgl. hierzu Thauer [11]).

Aus den im vorangehenden geschilderten Versuchen können wir schließen, daß das Substrat der Cardiazolwirkung mit größter Wahrscheinlichkeit das zentrale Wärmeregulationssystem ist. Denn die Vielzahl und die Verschiedenartigkeit der an der Kühlwirkung beteiligten, durch Cardiazol angeregten Einzelfunktionen deutet auf eine tiefgreifende Umstellung in der zentralen Wärmeregulation hin. Da die gleichen Funktionen normalerweise durch Überhitzung des Körpers ausgelöst werden, läßt sich die Umstellung des Regulators unter Cardiazol als eine Einstellung desselben auf eine niedrigere Körpertemperatur beschreiben, wobei die normale Körpertemperatur als zu hoch „empfunden" wird. Das Cardiazol wirkt mit anderen Worten wie eine Steigerung der Bluttemperatur. Zur Deutung eines solchen funktionellen Zusammenhangs sind grundsätzlich zwei Möglichkeiten denkbar. Nach Feitelberg und Lampl [20] steigert Cardiazol die Wärmebildung im Gehirn. Es wäre daher möglich, daß in der Steigerung der Hirngewebstemperatur durch Cardiazol das verbindende Glied in dem geschilderten funktionellen Zusammenhang zu erblicken ist. Es könnte sich aber auch darum handeln, daß der thermische Reiz als der adäquate Reiz des Wärmeregulationssystems unmittelbar auch durch den chemischen Reiz der Cardiazolwirkung ohne Zwischenschaltung einer erhöhten Wärmebildung vertreten werden kann, vielleicht auf

[20] Feitelberg, S., u. H. Lampl: Arch. internat. Pharmacodynam. **61**, 255 (1939).

der Grundlage physiologisch einheitlicher Grundwirkungen von Cardiazol und Temperatursteigerung am nervösen Substrat (Stoffwechselsteigerung ?). Es wäre von Interesse, festzustellen, ob diese Äquivalenz von Cardiazol- und Wärmewirkung am Wärmeregulationssystem nicht etwa nur der spezielle Ausdruck allgemeiner verwandtschaftlicher Beziehungen von Cardiazol- und Wärmewirkung ist, die auch an anderen Funktionen des Zentralnervensystems nachweisbar sein könnten. Hinweise auf eine solche Möglichkeit ergeben sich aus der Verstärkung der Krampfwirkung mancher Krampfgifte durch Temperaturerhöhung (Harnack und Zutz [21])*. Gegenüber älteren Vorstellungen, die als Angriffspunkt der Kühlgifte ein besonderes Kühlzentrum, das neben einem Wärmezentrum existieren soll, verantwortlich machen, ist die vorgetragene Auffassung allgemeiner gehalten und ihre Gültigkeit daher von einem Wandel unserer Auffassungen über den Bau des zentralen Wärmeregulationssystems weniger abhängig.

Bei einer auf Veränderung der zentralen Einstellung beruhenden Kühlgiftwirkung müßte allerdings erwartet werden, daß der Grad der Temperatursenkung weitgehend von äußeren Temperatureinflüssen unabhängig wäre. Das ist aber nicht der Fall. Doch wird es sich hier auch nur um einen scheinbaren Widerspruch handeln, der sich auflöst, wenn man die Flüchtigkeit der Cardiazolwirkung berücksichtigt. Man kann dann annehmen, daß die kurze Zeit, die die Cardiazolerregung anhält, trotz maximaler Arbeit vor allem der wärmeabgebenden Mechanismen nicht ausreicht, um den der neuen Einstellung des Regulators entsprechenden Grad der Temperatursenkung zu erreichen. Bei dieser Sachlage muß man es aber in der Hand haben, durch Erleichterung oder Erschwerung der Wärmeabgabe mittels Veränderung der äußeren Temperaturbedingungen den Grad der Angleichung der Körpertemperatur an die neue Einstellung des Regulators beliebig zu bestimmen, d. h. trotz Einstellung des Regulators auf eine bestimmte Temperatur das Ausmaß der Temperatursenkung zu variieren.

Wenn wir also das Wesen der Cardiazolwirkung in der Einstellung des zentralen Regulators auf eine neue Temperatur erblicken, so ergibt sich daraus selbstverständlich, daß die Kühlwirkung des Cardiazols an das Vorhandensein des zentralen Wärmeregulationsvermögens gebunden ist und verschwinden muß, sobald letzteres aufgehoben ist. Es steht daher im Einklang mit der wiedergegebenen Auffassung über das Wesen der Cardiazolwirkung, daß infolge der Lähmung des Wärmeregulations-

[21] Harnack, E., u. W. Zutz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **38**, 397 (1897).

* Anmerkung bei der Korrektur: Erinnert sei auch an die „Fieber- und Hitzekrämpfe", sowie an die Erniedrigung der „Höhenkrampfschwelle" durch Überhitzung [J. Bunge: Luftfahrtmedizin **6**, 127 (1941/42)]. Inzwischen haben freilich eigene Versuche an überhitzten Kaninchen ergeben, daß eine Steigerung der Körpertemperatur bis um 3° C oder mehr die intravenöse Krampfschwellendosis des Cardiazols nicht wesentlich verändert. Insbesondere war die erwartete Erniedrigung derselben nur bei einigen Tieren angedeutet, aber zu geringfügig (kaum 10%), um einwandfrei bewertet werden zu können. Es besteht freilich die Möglichkeit, daß konkurrierende Einflüsse der Überhitzung (Stoffwechselwirkung und Einflüsse auf die Giftverteilung durch Änderung der Kreislaufverhältnisse) die wahre Änderung der Krampfschwelle verschleiern können.

vermögens in der Narkose auch die Kühlwirkung des Cardiazols aufgehoben ist. Wir heben diese Feststellung besonders hervor, weil nach älteren Befunden von Harnack und Meyer[7] sowie Harnack und Hochheim[8] für die Krampfgifte mit Kühlwirkung ein Synergismus mit den Schlafmitteln in bezug auf die temperatursenkende Wirkung bestehen soll. Nachdem aber dieser Sachverhalt weder für das Cardiazol noch für das Pikrotoxin (Rosenthal und Wallach[5]) bestätigt werden konnte, dürfte auch den darauf aufgebauten Theorien, die auf die Möglichkeit eines Nebeneinanders von selektiver Erregung des einen und selektiver Lähmung des anderen der beiden für die Wärmeregulation verantwortlich gemachten Zentren hinzielen (H. H. Meyer[10]), der Boden entzogen sein.

Auch vom therapeutischen Standpunkt verdient das Verhalten der Temperaturwirkung des Cardiazols in der Narkose das größte Interesse im Hinblick auf die große praktische Bedeutung des narkotischen Wärmekollapses. Hierbei muß natürlich nicht nur die Aufhebung der Kühlwirkung des Cardiazols, sondern auch das Auftreten einer neuen, nämlich temperatursteigernden Wirkung, die zu einer prompten Beseitigung des Wärmekollapses führt, besonders hervorgehoben werden. Statt lokalisatorischer Vorstellungen (Reizung des Wärmezentrums statt Kühlzentrums in der Narkose, Rosenthal[9]) machen wir für diese Wirkung die Wiederherstellung der gesamten Lebensprozesse durch die allgemeine Weckwirkung des Cardiazols verantwortlich. Im einzelnen mag hierbei vielleicht eine besondere Rolle die Wiederherstellung jener Reflexvorgänge spielen, die nach Thauer[22] über verschiedene Höhen des Zentralnervensystems laufen und zusammengenommen als funktionell gekoppelte, aber nicht anatomisch begrenzte zentrale Wärmeregulationssystem ausmachen. Da die Wärmeregulation unter allen vegetativen Leistungen des Zentralnervensystems sich durch die größte Narkoseempfindlichkeit auszeichnet, erscheint die prompte und restlose Beseitigung dieser Störung als ein besonders eindrucksvoller Indikator für die Vollständigkeit der Weckwirkung des Cardiazols.

Wenn wir auf Grund des andersartigen Verhaltens des Coramins dessen Angriffspunkte an anderer Stelle des Zentralnervensystems suchen müssen, so liegt es am nächsten, diese unmittelbar in den Effektoren des Regulationssystems zu vermuten. Wir sehen also die Temperatursteigerung beim normalen Tier und die ihr zugrunde liegende motorische Reizung nicht als Ausdruck einer veränderten Einstellung des zentralen Regulators an. Beweis für die Richtigkeit dieser Auffassung ist in dem Verhalten des Coramins in der Narkose zu erblicken, wo auch ohne Wiederherstellung des zentralen Regulationsvermögens die besondere temperatursteigernde Wirkungskomponente des Coramins nachgewiesen werden kann. Daß hierbei höhere Dosen als am normalen Tier

[22] Thauer, R.: Klin. Wschr. **1941**, S. 969.

notwendig sind, entspricht dem antagonistischen Verhalten der Narkotica gegenüber der motorisch erregenden Wirkung der Analeptica, die auch in der Heraufsetzung der Krampfschwelle zum Ausdruck kommt.

Im Rahmen der wiedergegebenen Betrachtungsweise müssen wir auch die Möglichkeit einer selektiven Reizung des sog. Wärmezentrums durch Coramin ablehnen, obwohl der Schluß auf eine solche Wirkung wegen des fehlenden Zusammenhangs vom Temperatur- und allgemeiner Weckwirkung leicht gemacht werden könnte. Die Temperaturwirkung des Coramins, soweit sie nicht auf der allgemeinen Weckwirkung des Coramins beruht, ist vergleichbar mit einer Temperatursteigerung in der Narkose durch Wärmezufuhr von außen. Das Tertium comparationis in beiden Fällen ist das Fortbestehen der Lähmung des Wärmeregulationssystems.

Das Nebeneinander von starker Reizwirkung auf die Wärmebildung und mangelhafter Wiederherstellung des gesamten Wärmeregulationsvermögens, das sich auf somatischem Gebiet in dem Nebeneinander von starker motorischer Reizwirkung, die alle Grade bis zu Krämpfen annehmen kann, und mangelhafter Wiederherstellung der Körperhaltung und -bewegung wiederfindet, ist ein zur Charakterisierung der Coraminwirkung wichtiges Phänomen. Es zeigt sich darin ein ausgesprochen unkoordiniertes Bild der Coraminwirkung, dem der physiologisch ausgeglichene Charakter der Cardiazolweckwirkung gegenübersteht. Zur Deutung dieser Erscheinungen müssen wir berücksichtigen, daß die Weckwirkung eines Analepticums von dem gegenseitigen Verhalten des erregenden und des lähmenden Stoffes abhängt. Bekanntlich ist das Zentralnervensystem durch eine ungleiche Narkoseempfindlichkeit seiner einzelnen Abschnitte ausgezeichnet. Eine ausgeglichene Weckwirkung setzt daher eine ungleiche Affinitätsverteilung des Analepticums zu den einzelnen Teilen des Zentralnervensystems voraus, die sich nach den Schwerpunkten der narkotischen Lähmung zu richten hat. Es wäre daher für das Cardiazol eine größere Affinität zu den narkoseempfindlicheren höheren Abschnitten des Zentralnervensystems zu erwarten. Das ist nun nach der von mir[3] in früheren Untersuchungen ermittelten Verteilung der Angriffspunkte des Cardiazols in der Tat der Fall. Wenn in den gleichen Untersuchungen gefunden wurde, daß sich die Wirkung des Coramins gleichmäßiger auf alle Teile des Zentralnervensystems erstreckt, wobei sich im Vergleich mit dem Cardiazol vor allem eine stärkere Rückenmarkswirkung des Coramins ergibt, so erscheint in dieser Verteilung der Angriffspunkte des Coramins die ungleiche Narkoseempfindlichkeit der einzelnen Abschnitte des Zentralnervensystems viel weniger berücksichtigt und somit der Grund für die unausgeglichene Weckwirkung des Coramins gegeben. Im besonderen ergibt sich daraus, daß als Ursprungsgebiet der starken motorischen Reizerscheinungen, die von einfachem Zittern bis zu Krämpfen gehen können, vor allem die spinalen motorischen Zentren in Frage kommen. Auch die Tatsache, daß die Krampfschwelle des Cor-

amins in der Narkose weniger als die Krampfschwelle des Cardiazols heraufgesetzt sein kann (Tartler[23], Kohlhoff[24]), kann als Ausdruck der verhältnismäßig größeren Affinität des Coramins zu den narkoseresistenteren spinalen Zentren aufgefaßt werden. In Übereinstimmung hiermit steht auch die Betonung eines mehr spinalen Charakters der Coraminkrämpfe im Gegensatz zu einem mehr cerebralen Charakter der Cardiazolkrämpfe durch Kohn und Jacobi[25].

Auch die bekannte lähmende Wirkungskomponente des Coramins muß bei der Weck- wie auch der Temperaturwirkung in Rechnung gestellt werden. Es ist verständlich, daß diese in tieferen Narkosegraden stärker als in leichteren zum Ausdruck kommt. Ebenso ist aber leicht einzusehen, daß bei einer bestimmten Narkosetiefe die lähmende Komponente an den stärker narkotisierten Abschnitten sich mehr als an den leichter narkotisierten bemerkbar macht. Dadurch wird aber der unkoordinierte Charakter der Coraminweckwirkung noch weiter verstärkt. Dieser ist also nicht nur die Folge der eigentümlichen Verteilung der Angriffspunkte des Coramins, sondern auch die Folge der starken Beimengung lähmender Effekte im Gesamtwirkungsbild dieses Analepticums. Wenn in sehr tiefer Narkose auch die Rückenmarkszentren tief gelähmt sind, macht sich auch hier die lähmende Coraminwirkung stark bemerkbar und man beobachtet dann tödlichen Ausgang nach Coramin ohne Krämpfe.

Dem vor allem bei tieferen Narkosegraden nachweisbaren geringen Weckeffekt des Coramins, der sich in der mangelhaften Wiederherstellung der Körperstell- und Labyrinthreflexe zu erkennen gibt, steht die gute Wirkung auf die Atmung gegenüber. Man wird wohl nicht fehlgehen, auch hierfür den geschilderten Wirkungsmechanismus des Coramins, das die weniger narkoseempfindlichen Zentren besonders stark erregt, verantwortlich zu machen. Vielleicht spielt unterstützend auch noch eine Wirkung auf akzessorische Zentren im Rückenmark eine Rolle, wie das von mir[3] für die Blutdruckwirkung nachgewiesen werden konnte.

Leider ist die günstige Wirkung des Coramins auf die Atmung des Kaninchens in der Narkose bei tieferen Narkosegraden wiederum durch die lähmende Wirkungskomponente aufgehoben (Eichler[26]). Als ungünstige Auswirkung haben wir aber beim Kaninchen auch das leichte Auftreten von Zeichen beginnenden oder manifesten Lungenödems zu werten. Es ist von Interesse, daß auch klinische Beobachtungen in dieser Richtung vorliegen (Rosenberg[27]). Die Fähigkeit zur Auslösung eines Lungenödems ist allerdings eine weitverbreitete Eigenschaft der zentralen Krampfgifte und eingehende Untersuchungen hierüber sind nicht mit dem Coramin,

---

[23] Tartler, O. P.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **143**, 65 (1929). — [24] Kohlhoff, H.: Ebenda **136**, 331 (1928). — [25] Kohn, R., u. M. Jacobi: Ebenda **179**, 448 (1935). — [26] Eichler, O., u. W. Klein: Z. exper. Med. **99**, 28 (1936). — [27] Rosenberg, M.: Dtsch. med. Wschr. **1925**, S. 315.

sondern mit dem Cardiazol (Jarisch[28], Riechert[29] u. a.) ausgeführt worden. Das Cardiazollungenödem ist aber an sehr hohe Dosen gebunden und daher klinisch wahrscheinlich ohne Belang. Dagegen finden sich unter Coramin Anzeichen eines beginnenden Lungenödems bei Dosen, wie sie in den Weckversuchen Verwendung finden, gelegentlich auch noch bei kleineren Dosen (vgl. hierzu auch Barlow[30] und Maloney[31]). Wir glauben daher, daß das Coraminlungenödem nicht allein wie das Cardiazollungenödem hämodynamisch erklärt werden kann, sondern mit peripheren Angriffspunkten des Coramins zusammenhängt, wie sie sich in der Tat nachweisen ließen (Zinnitz und v. Bergmann[32], Hahn[3]). Das Coraminlungenödem hat daher vielleicht auch größere klinische Bedeutung zu beanspruchen.

Neospiran und Cycliton zeigen im großen und ganzen ein ähnliches Verhalten wie das Coramin.

Es soll nicht die Absicht dieser Ausführungen sein, weitgehende Schlüsse über die klinische Brauchbarkeit der einzelnen Analeptica zu ziehen. Denn viele der untersuchten Erscheinungen spielen sich in einem sehr hohen Dosenbereich ab, der nicht mit dem in der Klinik üblichen übereinstimmt, wenngleich zu beachten ist, daß heute in manchen Vergiftungsfällen die Behandlung mit sehr hohen Dosen der Analeptica empfohlen wird. Die mitgeteilten Befunde tragen in erster Linie zur Erweiterung unserer Kenntnisse über die Unterschiede in den pharmakologischen Grundeigenschaften der geprüften Analeptica bei.

Es sei nur kurz die Frage gestreift, inwieweit sich lediglich aus den festgestellten Temperaturwirkungen Sondervorzüge für irgendeines der geprüften Analeptica festlegen lassen. Auf Grund der Wirkung am normalen Tier wären solche für das Coramin und den ähnlich wirkenden anderen alkylierten Säureamiden zu erwarten gewesen. Im Hinblick auf den narkotischen Wärmekollaps hat sich diese Erwartung nicht bestätigt, da hier das Cardiazol wenigstens bei tieferen Narkosegraden besser abschneidet. Da sich die hier mitgeteilten Untersuchungen nur auf den narkotischen Wärmekollaps beziehen, bleibt die Frage offen, wie sich die Wirkung der untersuchten Stoffe bei anderen durch Wärmeverluste und Temperatursenkungen ausgezeichneten pathologischen Zuständen, die außerhalb des Bereiches der narkotischen Lähmungen liegen, gestaltet.

Zusammenfassung.

1. Cardiazol ruft beim normalen Kaninchen eine Temperatursenkung hervor. Diese Wirkung ist an Dosen gebunden, die mindestens die halbe

[28] Jarisch, A., u. H. Thoma: Klin. Wschr. **1940**, S. 76. — [29] Riechert, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 620 (1941). — [30] Barlow, C. W.: J. Pharmacol. (Am.) **55**, 1 (1935). — [31] Maloney, A. H.: Quart. J. exper. Physiol. **25**, 155 (1935). — [32] Zinnitz, F., u. F. v. Bergmann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 335 (1936).

subcutane Krampfdosis betragen. Die Temperaturerniedrigung hält mehrere Stunden an und betrug im Maximum bis 2,8° C.

2. Der Temperatursturz ist begleitet von einer starken Atemfrequenzsteigerung (bis über 250 Atemzüge pro Minute), mehr oder weniger deutlicher Ohrgefäßerweiterung und flacher, ausgestreckter Körperhaltung.

3. Das Ausmaß der Temperatursenkung nimmt mit zunehmender Außentemperatur ab.

4. Es wird die Bedeutung der verschiedenen physikalischen Faktoren für das Zustandekommen dieser Temperaturwirkung betont und angenommen, daß Cardiazol eine Einstellung der zentralnervösen Regulatoren des Wärmehaushalts auf eine niedere Bluttemperatur zur Folge hat.

5. Coramin ist im Gegensatz zum Cardiazol in äquivalenten Dosen (in bezug auf die Krampfdosis) ein temperatursteigerndes Gift. Es wurden Temperatursteigerungen bis zu 1,8° beobachtet. Bis zum Abklingen der Wirkung vergehen ebenfalls mehrere Stunden.

6. Diese Wirkung ist zurückzuführen auf Reizerscheinungen an niederen motorischen Zentren. Es sind dies wahrscheinlich die gleichen Zentren, von denen bei höherer Dosierung die Krämpfe ausgehen.

7. In der Narkose ist auch bei vielfach höherer Dosierung als am Normaltier die Kühlwirkung des Cardiazols aufgehoben und durch eine temperatursteigernde Wirkung ersetzt, die in kurzer Zeit zum Ausgleich des narkotischen Wärmekollapses führt. Diese Wirkung ist der Ausdruck einer vollständigen allgemeinen Weckwirkung wie der Temperaturanstieg beim spontanen Erwachen und läßt keine Beteiligung selektiver Einwirkungen des Cardiazols auf den Wärmehaushalt erkennen.

8. Die dem Coramin eigentümliche temperatursteigernde Wirkung tritt unter der Voraussetzung entsprechend höherer Dosierung als am Normaltier auch in der Narkose auf und überlagert sich dem auf Weckwirkung beruhenden Effekt, so daß die Rektaltemperatur unter Coramin stärker ansteigt, als es auf Grund der durch die Cardiazolversuche erwiesenen Zusammenhänge zwischen Temperatursteigerung und Weckwirkung zu erwarten wäre. Trotzdem bleibt wegen der schwachen Weckwirkung des Coramins das Ausmaß der Temperatursteigerung hinter der Cardiazolwirkung zurück.

9. In den späteren Versuchsstadien kann eine narkoseverlängernde und dementsprechend temperaturerniedrigende Coraminwirkung vorherrschen.

10. Sowohl in bezug auf die Weckwirkung wie auch in bezug auf die Temperaturwirkung in der Narkose zeichnet sich das Wirkungsbild des Coramins durch einen unkoordinierten Charakter aus, da ein Nebeneinander unvollkommen beeinflußter narkotischer Lähmungszustände und unphysiologisch starker Reizzustände auftritt, während Cardiazol zu einem

physiologisch ausgeglichenen Wachzustand führt. Mit dem Wachzustand stellt sich unter Cardiazol auch das Wärmeregulationsvermögen wieder her, während Coramin nur starke Wärmebildung bei unvollständiger korrelativer Beeinflussung des ganzen Regulationssystems herbeiführt.

11. Unter Berücksichtigung der charakteristischen Reihenfolge der narkotischen Lähmung wird das Wirkungsbild des Coramins auf eine zu große Affinität desselben zu niederen und weniger stark narkotisierten Abschnitten des Zentralnervensystems zurückgeführt, während das Cardiazol mit den Schwerpunkten seiner Wirkung den Schwerpunkten der narkotischen Lähmung (u. a. Zentren der Körperstellreflexe und Labyrinthreflexe) angepaßt ist. Dazu kommt die lähmende Wirkungskomponente des Coramins.

12. Unterschiede in der Einwirkung auf das vegetative Nervensystem haben sich an Hand der Blutzuckerwirkung nicht nachweisen lassen.

13. In der Wirkung auf die narkotische Atemlähmung stand das Coramin, gemessen an der Atemfrequenz, dem Cardiazol nicht nach. Jedoch traten häufig Zeichen eines beginnenden oder manifesten Lungenödems auf, eine Wirkung, die dem Cardiazol im Rahmen der hier zur Verwendung gebrachten Dosierung nicht zukommt.

14. Ähnlich wie Coramin verhalten sich Cycliton und Neospiran.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Tierärztlichen Hochschule Hannover.
(Direktor: Prof. Dr. R. Völker.)

Der Einfluß des hydrostatischen Druckes auf die Resorption aus der Subkutis.

Von
Dozent Dr. med. vet. habil. **A. Barke.**

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 14. April 1943.)

Für die Aufnahme gelöster Substanzen aus der Unterhaut spielen im allgemeinen die gleichen Einflüsse eine Rolle, die auch bei der Resorption aus dem Darm oder den serösen Höhlen zu berücksichtigen sind. Neben dem osmotischen Druck und der Wasserstoffionenkonzentration sind hierbei die Blut- und Lymphgefäße wesentlich beteiligt. Darüber hinaus sind aber auch mechanische Einflüsse, bedingt durch größere oder geringere Spannung, unter der eine injizierte Flüssigkeitsmenge steht, für die Resorption nicht ohne Bedeutung. Axmacher (1) weist darauf hin, daß diese Einflüsse nicht sicher anzugeben seien; rückschließend von den Verhältnissen der Resorption aus dem Darm müsse man aber für die Unterhaut eine schnellere Resorption vermuten, wenn die injizierten Lösungen unter höherem Druck ständen. In Übereinstimmung hiermit führt Mond (4) an, daß sich Änderungen in der Druckdifferenz zwischen Blut und serösen Höhlen auf die Resorptionsgeschwindigkeit auswirken. Untersuchungen über den Einfluß des hydrostatischen Druckes auf die Resorption aus der Bauchhöhle ergaben, daß mit zunehmendem Druck die Resorptionsgeschwindigkeit zunächst zunimmt; auch die von Naegeli (5) angestellten Versuche über die Resorption in der Pleura zeigten, daß Änderungen des hydrostatischen Druckes die Aufnahme von Flüssigkeiten beeinflussen.

Aus dem Verlauf der Resorption, wie sie beispielsweise von den serösen Höhlen bekannt ist, lassen sich fraglos allgemeine Rückschlüsse für die Resorption aus dem subcutanen Bindegewebe ziehen. Es fehlt aber nicht an Versuchsergebnissen, die zeigen, daß in jedem Organ spezifische Faktoren die Resorption beeinflussen. Im Hinblick auf die Resorption von Lösungen, die unter Anwendung eines erhöhten Druckes in die Unterhaut injiziert wurden, dürften sich die hierbei zu berücksichtigenden Einflüsse von denen, wie sie bei der Resorption aus serösen Höhlen auftreten, wesentlich unterscheiden. Vor allem ist anzunehmen, daß die Resorptionsgeschwindigkeit Abweichungen zeigt. Eine unter Druck in die Unterhaut injizierte Lösung ist örtlich umschrieben und begrenzt, nimmt aber dennoch eine größere Ausdehnung an, als eine nicht unter Druck applizierte Flüssigkeit. Andererseits kann sich in einem begrenzten Raum der angewendete Druck

stärker auswirken als in einem nicht abgegrenzten Bezirk. Es liegt auch auf der Hand, daß durch unvorsichtiges, gewaltsames Vorgehen gelegentlich Gewebszerreißungen entstehen können, die ihrerseits die Resorption beeinträchtigen.

Über die Resorptionsgeschwindigkeit von Lösungen, die unter erhöhtem Druck in die Unterhaut injiziert wurden, sind im Schrifttum keine genauen Angaben zu finden. In welchem Ausmaße derart injizierte Lösungen resorbiert werden, ist aber nicht nur von allgemein-pharmakologischem Interesse, sondern hat auch praktische Bedeutung. Es sei beispielsweise an die Hochdrucklokalanästhesie von Kirschner (3) erinnert oder an die subcutane Anwendung von Sauerstoff, der unter erhöhtem Druck in die Unterhaut injiziert werden muß (in der Tierheilkunde eine empfohlene, vielgeübte Anwendungsart [Richters (7)].

Da die Ermittlung der Resorptionsgeschwindigkeit eines subcutan verabreichten Stoffes durch Bestimmung des Stoffes im Blute keine genauen Werte ergibt, weil hierbei der Zeitpunkt, an dem die Aufnahme vom Applikationsort beendet ist, nicht ermittelt werden kann, und andererseits die Stoffe bis zur Entgiftung bzw. Ausscheidung aus dem Körper im Blute kreisen, haben wir unsere Untersuchungen ähnlich angestellt, wie es von Wessely (9) angegeben worden ist. Hierbei wurden Hunden bestimmte Mengen einer 20%igen Traubenzuckerlösung subcutan injiziert, die Tiere wurden nach gewissen Zeitabständen getötet, das infiltrierte Gewebe sorgfältig herausgenommen, so daß die am Applikationsort noch vorhandene nicht resorbierte Lösungsmenge mit Sicherheit erfaßt wurde. Das entnommene Material, also Lösung und angrenzende Muskulatur, wurde auf seinen Glucosegehalt untersucht. Die Resorption wurde alsdann aus der Differenz der verabreichten Menge und der im Untersuchungsmaterial nachgewiesenen Glucosemenge berechnet. Als Injektionsmenge wurden möglichst übereinstimmend jedem Tier 20 g der Lösung verabreicht, und zwar immer an der rechten Thoraxseite im Bereich der leicht abzuhebenden Haut hinter der Oberarmmuskulatur.

Zur quantitativen Bestimmung der Glucosemenge wurde das entnommene Untersuchungsmaterial gewogen und in der von Polenske (6) angegebenen Weise behandelt, mit 600 ccm Wasser überspült und mit verdünnter Essigsäure bis zur sauren Reaktion versetzt und gleichmäßig verrührt. Nach 30 Minuten Stehenlassen wird zum Sieden erhitzt und 2 Minuten im Sieden erhalten. Halb erkaltet wird alsdann die Masse durch ein dünnes Flanelltuch geseiht, der ausgepreßte Rückstand noch zweimal in gleicher Weise mit je 200 ccm Wasser behandelt und die Flüssigkeit durch ein nasses Filter filtriert. Nach Zusatz von einem Eßlöffel Tierkohle dampft man vorsichtig auf etwa 250 ccm ein, filtriert, wäscht mit 250 ccm siedendem Wasser aus, dampft das Wasser auf 50 ccm ein und vereinigt mit dem Filtrat. Die erkaltete saure Flüssigkeit wird mit Ammoniak schwach übersättigt, auf 300 ccm aufgefüllt, filtriert und mit einigen Tropfen Eisessig neutralisiert. In dieser zur Zuckerbestimmung

fertigen Lösung wird der Zuckergehalt nach dem Verfahren von Schoorl (8) mit Hilfe der Cupromethode mit Luffscher Lösung bestimmt.

Nach Beythien (2) ergeben sich die genauesten Werte, wenn die Lösungen etwa 0,5% Zucker enthalten. Es wurden deshalb von der zur Zuckerbestimmung hergestellten Lösung je 1 ccm mit 100 ccm Wasser verdünnt und von dieser Lösung 10 ccm untersucht.

Zu 25 ccm der Luffschen Lösung gibt man in einem 300-ccm-Erlenmeyer, der an einen Rückflußkühler angeschlossen ist, 10 ccm der zu untersuchenden Zuckerlösung und erhitzt nach Zusatz von etwas Wasser und Bimssteinkörnchen auf freier Flamme zum Kochen. Darauf wird sofort an einen Rückflußkühler angeschlossen und von diesem Augenblick an mit schon brennender Flamme 10 Minuten lang gekocht. Darauf wird sofort abgekühlt und nach 5 Minuten die Titration ausgeführt.

Man setzt aus einem Meßzylinder 50 ccm 0,4 n Essigsäure, nach dem Umschütteln 25 ccm 0,1 n Jodlösung aus einer Bürette und nach abermaligem Umschütteln 55 ccm 0,75 n Salzsäure aus einem Meßzylinder vorsichtig zu. Dann wird bis zur völligen Lösung des roten und weißen Cuproniederschlags umgeschüttelt und der Jodüberschuß mit 0,1 n Thiosulfat zuerst ohne Stärkelösung bis zum grünen Farbumschlag und dann nach Zusatz von etwa 1 ccm Stärkelösung bis zum hellblauen Farbumschlag zurücktitriert. Der Verbrauch an Thiosulfat wird von dem mit 25 ccm der Jodlösung angestellten blinden Versuch abgezogen und die entsprechende Zuckermenge einer Tabelle entnommen.

Bei unseren Versuchen haben wir zunächst die Resorption von Traubenzuckerlösungen bestimmt, die nach Anwendung der üblichen Injektionstechnik in die Unterhaut appliziert wurden. Wie bereits erwähnt, wurden jeweils 20 g der Traubenzuckerlösung injiziert, weil sich in früheren Versuchen gezeigt hatte, daß auch die Oberfläche einer injizierten Flüssigkeitsmenge für die Resorptionsgeschwindigkeit von Bedeutung ist*. Hierdurch sollte erreicht werden, daß dieser Einfluß in allen Versuchen gleich blieb. Die Einzelheiten zu diesen Versuchen sind aus der Tabelle 1 zu ersehen.

Die Untersuchungen zeigen, daß die Resorption einer subcutan injizierten Traubenzuckerlösung zunächst sehr schnell vor sich geht, dann aber immer mehr abnimmt. $^4/_5$ der in Lösung injizierten Traubenzuckermenge sind bereits nach 30 Minuten resorbiert. Nach 4 Stunden ist noch ein Bruchteil der verabreichten Traubenzuckermenge am Applikationsort nachweisbar, die Resorption ist demnach zu der Zeit noch nicht beendet. Wessely (9) fand die Resorption einer 19,5%igen Traubenzuckerlösung nach $6^1/_2$ Stunden abgeschlossen.

Bei den Versuchen fiel weiterhin auf, daß die in die Unterhaut injizierte Quaddel mit fortschreitender Resorption größer wird. Das zeigt sich auch sehr eindeutig an der Zunahme des Gewichts des Untersuchungsmaterials.

---

* Vgl. Arch. f. Tierheilkde. **77**, 427 (1942); Naunyn-Schmiedebergs Arch. **200**, 408 (1942).

Tabelle 1. Die Resorption von 20 g einer 20%igen Traubenzuckerlösung, die bei gewöhnlicher Injektionstechnik in die Unterhaut appliziert wurden.

Nr.	Tötung des Tieres Min. nach der Injektion	Entnommene Menge Untersuchungsmaterial g	Nachgewiesene Menge Glucose, Fructose und Invertzucker	Resorbiert wurden	
				in g	in %
1	3	69,4749	3,620	0,380	9,5
2	15	68,9636	0,987	3,013	75,3
3	30	71,7875	0,6981	3,3019	82,6
4	45	83,2750	0,4876	3,5124	87,8
5	60	96,4331	0,1927	3,8073	95,2
6	120	123,3876	0,0987	3,9013	97,5
7	180	131,2109	0,0511	3,9489	98,7
8	240	148,3768	0,0093	3,9907	99,7

Anmerkung: In 100 g Gewebe eines frisch getöteten Hundes konnten 0,005 bis 0,008 g Glucose, Fructose oder Invertzucker nachgewiesen werden.

Während 15 Minuten nach der Injektion die makroskopisch erkennbare Quaddel mit dem angrenzenden Gewebe etwa 70 g wog, machte das Gewicht der gleichen Injektionsmenge mit umgebendem Gewebe nach 4 Stunden fast 150 g aus, d. h. also über das Doppelte. Diese Gewichtszunahme ist, wie Wessely (9) bereits nachwies, auf das Einströmen von Flüssigkeit in das Lösungsdepot zurückzuführen.

Die Injektionen der Traubenzuckerlösungen unter Anwendung eines erhöhten Druckes wurden mit einem Hochdruckanästhesieapparat vorgenommen, und zwar einmal, wenn die Lösung mit einem Überdruck von 1 Atmosphäre verabreicht wurde und zum anderen nach Anwendung eines Überdruckes von 2 Atmosphären. Hierbei war es nicht möglich, in jedem Falle genau 20 g der Lösung zu applizieren, es wurde deshalb die jeweils injizierte Menge durch Zurückwiegen der nach Beendigung der Injektion im Apparat verbliebenen Menge bestimmt. Die Tiere wurden, wie bereits angegeben, in verschiedenen Zeitabständen getötet, die injizierte Quaddel herausgenommen und in diesem Untersuchungsmaterial der Zuckergehalt bestimmt. Die Einzelheiten dieser Versuche sind aus den Tabellen 2 und 3 zu ersehen.

Während aus einer Lösung, die mit gebräuchlicher Injektionstechnik injiziert wurde, im Verlauf von 15 Minuten bereits 75% der injizierten Menge resorbiert wurden, sind nach Anwendung eines Überdruckes von 1 Atmosphäre in der gleichen Zeit nur 65% des gelösten Stoffes aufgenommen, wenn die gleiche Lösungsmenge verabreicht wurde. Die Resorption erfolgt, wenn die Lösungen mit einem Überdruck von 1 Atmonsphäre subcutan injiziert werden, somit langsamer, als wenn die gleiche Lösungsmenge unter Anwendung gewöhnlicher Injektionstechnik verabreicht wird.

Nach Anwendung eines Überdruckes von 2 Atmosphären zur Injektion einer Lösung in die Unterhaut nimmt die Resorptionsgeschwindigkeit weiter ab, denn nach 15 Minuten ist etwa die Hälfte

Tabelle 2. Die Resorption einer 20%igen Traubenzuckerlösung, die unter Anwendung eines Überdruckes von 1 Atm. in die Unterhaut injiziert wurde.

Nr.	Tötung des Tieres Min. nach der Injektion	Injizierte Lösungsmenge g	Entnommene Menge Untersuchungsmaterial g	Nachgewiesene Menge Glucose, Fructose und Invertzucker	Resorbiert wurden	
					in g	in %
1	15	20	40,6210	1,441	2,559	63,97
2	15	21	56,1933	1,442	2,758	65,66
3	20	20	95,5856	1,083	2,917	72,92
4	30	20	72,7320	0,921	3,079	76,97
5	30	27	133,5520	1,360	4,040	74,81
6	60	24	55,5568	0,720	4,080	85,00

Tabelle 3. Die Resorption einer 20%igen Traubenzuckerlösung, die unter Anwendung eines Überdruckes von 2 Atm. in die Unterhaut injiziert wurde.

Nr.	Tötung des Tieres Min. nach der Injektion	Injizierte Lösungsmenge g	Entnommene Menge Untersuchungsmaterial g	Nachgewiesene Menge Glucose, Fructose und Invertzucker	Resorbiert wurden	
					in g	in %
1	15	22	49,6755	2,167	2,233	50,75
2	15	24	71,8747	2,265	2,535	52,81
3	20	26	94,3984	2,088	3,112	59,84
4	30	24	84,6678	1,246	3,554	74,04
5	30	20	76,5565	0,761	3,239	80,94
6	60	25	78,9015	0,760	4,240	84,80

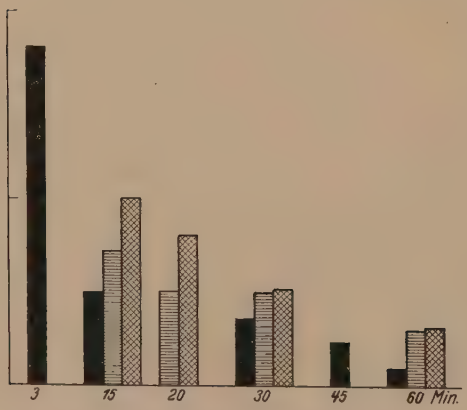


Abb. 1. Schematische Darstellung des Verlaufs der Resorption von Lösungen, die bei verschiedenem hydrostatischem Druck appliziert wurden. Die Säulen zeigen die Menge des nicht resorbierten Zuckers in % an.
■ Bei gewöhnlicher Injektionstechnik.
▤ Bei Anwendung eines Überdruckes von 1 Atm.
▩ Bei Anwendung eines Überdruckes von 2 Atm.

der verabreichten Menge resorbiert, im Gegensatz zu 65 % bei 1 Atmosphäre Überdruck bzw. 75 % bei gewöhnlicher Applikationstechnik. Nach 30 Minuten ist der Unterschied in der Resorptionsgeschwindigkeit zwischen Anwendung von 1 oder 2 Atmosphären Überdruck ausgeglichen. Im Vergleich zu der Resorptionsgeschwindigkeit bei Lösungen, die mit gewöhnlicher Injektionstechnik appliziert wurden, ist jedoch nach Anwendung eines Überdruckes noch nach 30 und auch nach 60 Minuten ebenfalls eine Resorptionsverzögerung zu erkennen. Während bei den Versuchen der Gruppe I (s. Tabelle 1) nach 60 Minuten 95 % der in Lösung verabreichten Menge Traubenzucker resorbiert war, betrug die Resorption nach Anwendung von Überdruck (s. Tabelle 2 und 3) nur etwa 85 %.

Die angestellten Versuche zeigen somit, daß die Resorption einer bestimmten Menge Traubenzuckers, die in 20%iger Lösung in die Unterhaut injiziert wird, am schnellsten vor sich geht, wenn die Injektion ohne Anwendung eines Überdruckes verabreicht wird. Werden die Lösungen unter Anwendung von Überdruck appliziert, so ist die Resorption verzögert. Die Resorptionsverzögerung ist kurz nach der Injektion am größten. Sie ist nach etwa 30 Minuten ausgeglichen, wenn die Lösungen mit 1 oder 2 Atmosphären Überdruck injiziert wurden; im Vergleich zu Lösungen, die mit gewöhnlicher Injektionstechnik verabreicht wurden, ist die Resorption der mit Überdruck applizierten Lösungen auch nach 60 Minuten noch verzögert.

Während bei den Versuchen, in denen die Lösungen mit der gebräuchlichen Injektionstechnik verabreicht wurden, die Menge des entnommenen Untersuchungsmaterials mit der Zeit konstant zunahm, war dieses in den Fällen, wo Überdruck angewendet wurde, nicht zu beobachten. Hier hatte die injizierte Lösungsmenge teils eine weit stärkere Ausdehnung im Gewebe erfahren, teils war aber auch eine ganz abgegrenzte Quaddel zu beobachten. Diese Unterschiede dürften auf verschiedene Lage der Injektionsnadel einerseits, andererseits aber auch auf eine individuell bedingte unterschiedliche Resistenz des Gewebes zurückzuführen sein. Ob es nach der Anwendung des benutzten Überdruckes schon zu Gewebszerreißungen, auf die Axmacher (1) hingewiesen hat, kommt, wurde nicht nachgeprüft.

Naegeli (5) hat auf Grund seiner Untersuchungen über die Resorption in der Pleura die Beeinflussung der Aufnahme von Flüssigkeiten bei verschiedenem hydrostatischem Druck zum großen Teil auf die hierdurch bedingten Zirkulationsstörungen zurückgeführt. Für die Resorptionsverzögerung der unter erhöhtem hydrostatischem Druck in die Subcutis injizierten Lösungen dürfte ebenfalls die veränderte Zirkulation verantwortlich sein. Durch die unter Druck injizierte Lösung werden die Blutgefäße in der Umgebung der Quaddel zusammengepreßt, und somit die Zirkulation zum Teil ausgeschaltet. Dieser Zirkulationsausfall wird um so stärker sein, je höher der angewendete Druck war. Da aber die Resorption, wie bekannt, in hohem Maße durch die Zirkulation im Resorptionsbereich beeinflußt wird, ist es verständlich, daß nach Anwendung eines erhöhten hydrostatischen Druckes, durch den die Zirkulation beeinträchtigt wird, die so injizierten Lösungen langsamer resorbiert werden. In der Unterhaut müssen infolge Fehlens größerer „Räume" schon geringe Druckerhöhungen eine Zirkulationsbeeinträchtigung und damit Resorptionsveränderungen hervorrufen. Wenn bei erhöhtem hydrostatischem Druck die Resorption aus dem Darm oder den serösen Höhlen vermehrt ist, so müssen doch, wie die angestellten Versuche zeigen, Rückschlüsse hieraus für die Unterhaut zu Trugschlüssen führen. Schon eine über das „Normale" hinausgehende Erhöhung des hydrostatischen Druckes wird die Resorption von gelösten Stoffen aus der Unterhaut vermindern, aber nicht erhöhen.

Zusammenfassung.

Der Einfluß des hydrostatischen Druckes auf die Resorption einer bestimmten Menge einer 20%igen Traubenzuckerlösung aus der Unterhaut wurde an Hunden untersucht.

Die Resorptionsgeschwindigkeit ist am größten, wenn die injizierten Mengen ohne Anwendung von Überdruck verabreicht werden. Aus den so applizierten Lösungen sind nach 15 Minuten 75% der verabreichten Menge resorbiert.

Werden die Lösungen mit einem Überdruck von 1 Atmosphäre injiziert, so sind nach 15 Minuten 65% und nach Injektion der Lösung mit 2 Atmosphären Überdruck in der gleichen Zeit etwa 50% der gegebenen Menge resorbiert. Etwa 30 Minuten nach der Injektion sind aus den unter Überdruck injizierten Lösungen etwa gleiche Mengen resorbiert (etwa 75%).

Die Resorption von gelöstem Traubenzucker aus der Unterhaut erfolgt nach Injektion unter erhöhtem Druck langsamer; die Resorptionsgeschwindigkeit nimmt hierbei also mit Erhöhung des hydrostatischen Druckes ab.

Literatur.

1) Axmacher, F.: Allgemeine Pharmakologie. Berlin 1938. — 2) Beythin, A.: Laboratoriumsbuch für den Nahrungsmittelchemiker. Dresden-Leipzig 1931. — 3) Kirschner, I.: Dtsch. Z. Chir. **234**, 8 (1931); Münch. med. Wschr. **81**, 1 (1934). — 4) Mond, R.: Resorption aus dem Peritonaeum und anderen serösen Höhlen. Im Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie Bd. 4, Resorption und Exkretion. Berlin 1929. — 5) Naegeli: Z. exper. Med. **1**, 164 (1913). — 6) Polenske: Zit. nach Beythin: Laboratoriumsbuch für den Nahrungsmittelchemiker. Dresden-Leipzig 1931. — 7) Richters, C. E.: Die Tiere im chemischen Kriege, 4. Auflage. Berlin 1939. — 8) Schoorl, N.: Zit. nach Beythin, A: Laboratoriumsbuch für den Nahrungsmittelchemiker. Dresden-Leipzig 1931. — 9) Wessely, K.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **49**, 417 (1903)

Aus dem Pharmakologischen Institut der Peter-Pázmány-Universität Budapest.

Über den Synergismus der bronchialkrampflösenden Arzneimittel.

Von

B. v. Issekutz und **P. Genersich.**

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 15. April 1943.)

Obgleich man über zahlreiche Arzneimittel für die Lösung des Krampfes der glatten Muskeln verfügt, so erweist die Erfahrung dennoch, daß keines von diesen für sich allein die gewünschte Wirkung vollkommen zu erzielen vermag. Das hat sicherlich auch darin seine Ursache, daß der Krampf hervorgebracht werden kann sowohl vom Reiz des erregenden vegetativen Nerven, wie der Lähmung der Hemmungsnerven bzw. der unmittelbaren Erregung der glatten Muskeln. So erhofft man denn von der gemeinsamen Anwendung an verschiedenen Angriffspunkten wirkender Krampflösungsmittel, daß es gelingen wird, spastische Zustände gleichviel welchen Ursprungs zu beseitigen. Von dieser Überlegung ausgehend untersuchte einer von uns [v. Issekutz (1)] bereits vor $2^1/_2$ Dezennien den Synergismus von Papaverin und Novatropin (Homatropinmethylbromid) und wies nach, daß diese gegenseitig ihre Wirkung bei der Lösung des an dem Kaninchendarm durch Pilocarpin hervorgerufenen Krampfes sehr bedeutend zu steigern vermögen. Späterhin deckte H. Handowsky (2) einen ähnlichen Synergismus zwischen Papaverin und Eumydrin auf, T. Gordonoff (3) aber vermeinte bei der Wirkung des Gemisches von Diallylbarbitursäure, Atropin und Papaverin eine außergewöhnlich große Potenzierung festzustellen. v. Issekutz (1) fand indessen, daß der Synergismus zwischen Tropeinen und Papaverin weder von Diallylbarbitursäure, noch von Pyramidon, das man in solchen Mischungen ebenfalls anzuwenden pflegt, sich weiter verstärken läßt.

Vom Gesichtspunkt der Therapie des Asthma bronchiale aus erschien es wünschenswert, die Untersuchungen auch auf die bronchialkrampflösenden Mittel auszudehnen. Mit dieser Frage befaßte sich zuerst Z. Dirner (4), der an der Froschlunge nachwies, daß der mittels Acetylcholin erzeugte Krampf durch eine aus Papaverin, Novatropin, Ephedrin und Coffein bestehenden Kombination in besonders hohem Maße gelöst werden kann. Wir wünschten diese Ergebnisse durch am lebenden Tiere vorgenommene Versuche zu ergänzen und zu bestätigen. Dafür erschien sehr geeignet die Methode von P. Kallós und W. Págel (5), nach der asthmatische Anfälle an Meerschweinchen durch die Einatmung von

Histamin oder Acetylcholin-Aerosol hervorgebracht werden. Diese Methode wandte mit Erfolg O. Schaumann (6) beim Studium der antiasthmatischen Wirkung von Dolantin an und stellte fest, daß davon 10 mg/kg die von Histamin bewirkten Erstickungsanfälle verhindern.

Wir führten unsere Versuche ebenfalls an Meerschweinchen durch und benutzten zur Vernebelung der Histaminlösung einen üblichen Glasinhalator. Durch diesen bliesen wir mittels Druckpumpe 6,8 Liter Luft pro Minute, die 0,05 ccm Flüssigkeit mitrissen, die Dichte des entstandenen Nebels war daher 0,007 ccm/Liter. Da diese erheblich unter der von Schaumann angewandten Aerosoldichte lag, mußten wir Lösungen mit einem höheren Gehalt als 0,1 % Histamin verwenden. Wir bliesen den Histaminnebel in einen horizontalen, 31 cm langen, 10 cm breiten Glaszylinder durch einen lockeren Pfropfen hindurch, so daß die eingeblasene Luft neben diesem leicht austreten konnte. Wir legten jedesmal nur ein Tier in das Gefäß und beobachteten genau sein Verhalten während der Einatmung.

Wir beobachteten drei Wirkungsgrade und bezeichneten diese wie folgt:

$+$ = Das Tier ist etwas unruhig, die Atmung frequenter, etwas angestrengt.

$\#$ = Die Dyspnöe steigert sich, es entwickelt sich eine sehr verlangsamte, schnappende Atmung mit erschwerter Ausatmung. Das Tier legt sich meistens auf die Seite.

$\#\#$ = Es tritt typischer Erstickungskrampfanfall auf.

Nimmt man das Tier in diesem Augenblick aus dem Gefäß heraus, so bleibt es noch einige Minuten auf der Seite liegen; die Atmung kommt indessen bald in Gang, wird stufenweise frequenter und das Tier erholt sich wieder. Bei sorgfältiger Beobachtung kann man das Auftreten des Krampfanfalls ruhig abwarten, denn er ist nicht lebensgefährlich, das Tier geht durch sofortige Unterbrechung der Einatmung sicher zu retten. Wir stellten mit 13 Tieren mehr als 600 Versuche an, und nur in einem Falle ging das Meerschweinchen unter dem Krampfanfall zugrunde.

Wenn kein Krampf erfolgte, dann setzten wir die Einatmung 10 Minuten fort und stellten das Verhalten des Tieres fest.

Wir arbeiteten mit 0,2—0,6 %iger Histaminlösung, somit betrug der Histamingehalt des Nebels 14—42 γ/Liter. Schaumann arbeitete mit 15 γ/Liter, da er jedoch das Zugrundegehen der Tiere befürchtete, unterbrach er die Inhalation vor dem Auftreten des Krampfes. Dementgegen beobachteten wir auch, daß oft wiederholte Einatmung die Tiere in gewissem Maße an Histamin gewöhnt, weshalb wir dessen Konzentration häufig stufenweise erhöhen mußten. Zwecks Vermeidung von Irrtümern bestand jeder unserer Versuche aus zwei Teilen. Zuerst erprobten wir die Wirkung der Histamineinatmung, und wenn diese einen Krampf ver-

ursachte, spritzten wir den zu untersuchenden Stoff subcutan ein und ließen das Tier nach 20 Minuten den Histaminnebel wieder einatmen.

Bezüglich des Angewöhnens diene als Beispiel unser Versuchstier Nr. 3, das bei Versuchsbeginn am 16. Januar 1942 ein Gewicht von 480 g hatte. Es bekommt auf Einatmung von aus 0,2 %iger Histaminlösung erzeugten Nebels Krämpfe. Es wurde bis 22. Januar fünfmal zu Versuchen benutzt, dann hat die 0,2 %ige Histaminlösung keine Wirkung mehr. Deshalb wenden wir anstatt ihr eine 0,3 %ige Lösung an. Am 7. Februar, nach 7 Versuchen, wirkt auch diese nicht mehr. Von da ab benutzten wir 0,6 %ige Histaminlösung, mit der wir bis 26. April noch 44 Versuche durchführten, und sie erweist sich in jedem Falle als wirksam. Das Tier hatte dann 614 g Gewicht, die vielen Versuche haben ihm also nicht geschadet. Bei den meisten Tieren erwies sich der aus 0,6 %iger Histaminlösung bereitete Nebel dauernd als wirksam. Bei einem unserer Tiere, das anfänglich auf 0,3 %ige Histaminlösung gut reagierte, nahm die Histaminempfindlichkeit stufenweise dermaßen ab, daß nach 27 Versuchen selbst aus 1 %iger Lösung hergestellter Nebel unwirksam war.

Zu den Versuchen verwandten wir Novatropin (Homatropinmethylbromid), Papaverin, Ephedrin, Suprifen und Sympatol. Vor allem mußten möglichst genau die Gaben der einzelnen Mittel bestimmt werden, die die Wirkung des Histaminnebels völlig zu verhindern oder mindestens auf den mit einem Kreuz (+) bezeichneten Wirkungsgrad zu reduzieren vermögen. Die Gaben beziehen sich stets auf 100 g Körpergewicht.

Mit jeder Novatropingabe führten wir je 10 Versuche durch und fanden, daß 0,1 mg in 1 Falle, 0,2 mg in 3 Fällen, 0,3 mg in 5 Fällen, 0,4 mg aber in 10 Fällen wirksam waren. Nach Behrens (7) und Kärber (8) berechnet sind 0,265 mg die mittlere wirksame Gabe des Novatropins. Von Papaverin sind Dosen von 1—2,5 mg unwirksam. Gaben von 3—5 mg vermögen etwa in der Hälfte der Fälle die Histaminwirkung zu verhindern oder wenigstens stark abzuschwächen, allein selbst 7 mg erweisen sich nicht in allen Fällen als wirksam. Ephedrin war auch in Dosen von 5—7 mg wirkungslos. 0,1 mg Suprifen verhinderten nur in einem Falle, 0,15 mg in 2 Fällen die Histaminkrämpfe, selbst 0,2 mg erwiesen sich vielfach als unwirksam, und erst 0,3 mg war die Dosis, die im Großteil der Fälle die Histaminwirkung zu beseitigen vermochte. Ähnliche Verhältnisse fanden wir bei Sympatol, von dem 1,2 mg die sicher wirksame Gabe war. Den Berechnungen der Größe des Synergismus legten wir folgende Dosen zugrunde: Novatropin 0,265 mg, Papaverin 4,0 mg, Ephedrin 8 mg, Suprifen 0,25 mg, Sympatol 1,2 mg. Bei den Substanzen, bei denen wir die mittlere wirksame Gabe nicht genau bestimmen konnten, nahmen wir also diese eher kleiner als größer, als der Wahrscheinlichkeit entsprechend an.

In der nächsten Versuchsreihe (Tabelle 1) kombinierten wir je zwei Arzneimittel. Den stärksten Synergismus fanden wir zwischen Novatropin

Tabelle 1.

Novatropin		Papaverin		Summe der Prozente	Wirkungen der Histamineinatmungen
mg/100 g	% *	mg/100 g	%		
0,05	19,0	1,5	38,5	57,5	+ 0 0 0
0,05	19,0	1,2	30,0	49,0	+ 0 + + 0 0 0
0,05	19,0	1,0	25,0	44,0	++ ++ ++ 0 0 ++ ++ 0 ++
0,07	26,5	1,0	25,0	51,5	0 + 0 0
0,07	26,5	0,8	20,0	46,5	0 0 + 0
0,03	11,4	1,2	30,0	41,2	++ ++ 0 ++
Novatropin		**Ephedrin**			
0,05	19,0	1,0	12,5	31,5	0 + 0 +
0,05	19,0	0,8	10,0	29,0	++ + + + 0 0 0
0,05	19,0	0,7	8,8	27,8	0 ++ ++ ++
0,05	19,0	0,5	6,2	25,2	++ 0 ++ ++ ++
0,06	22,6	0,6	7,5	30,0	0 0 0 ++ 0 + 0
0,07	26,5	0,5	6,2	32,7	++ 0 0 ++
0,04	15,2	0,4	5,0	20,2	0 ++ + ++
Novatropin		**Suprifen**			
0,05	19,0	0,10	40,0	59,0	++ ++ + + +
0,05	19,0	0,05	20,0	39,0	++ ++ ++ ++
0,07	26,5	0,07	28,0	54,5	++ ++ + + ++
0,07	26,5	0,10	40,0	66,5	0 + ++ 0 + +

Novatropin		Sympatol		Summe der Prozente	Wirkungen der Histamineinatmungen
mg/100 g	%	mg/100 g	%		
0,05	19,0	0,40	32,2	51,2	0 ++ 0 0 ++ ++
0,05	19,0	0,30	25,0	44,0	++ 0 ++ 0 0 ++
0,05	19,0	0,25	20,8	39,8	++ + ++ ++
0,05	19,0	0,20	16,8	35,8	++ 0 ++ ++
0,07	26,5	0,50	41,6	68,1	++ 0 0 + ++
0,10	37,8	0,50	41,6	79,4	++ 0 0 +
Papaverin		**Ephedrin**			
1,0	25,0	1,0	12,5	37,5	+ 0 0 0
0,8	20,0	0,8	10,0	30,0	++ 0 0 0
0,7	17,5	0,7	8,8	26,3	++ ++ ++ +
0,6	15,0	0,6	7,5	22,5	0 ++ ++ ++
0,7	17,5	1,2	15,0	32,5	+ 0 ++ +
0,7	17,5	1,0	12,5	30,0	++ + ++ + 0
0,5	12,5	0,8	10,0	22,5	+ ++ ++ ++

* % der wirksamen Gabe.

und Papaverin. 0,05 mg Novatropin verhinderten in Kombination mit 1,2 mg Papaverin, 0,07 mg Novatropin aber mit 0,8 mg Papaverin in allen Fällen völlig oder wesentlich die Histaminwirkung. Es waren demnach 19 bzw. 26,5 % der mittleren wirksamen Gabe von Novatropin und 30 bzw. 20 % des Papaverins (also zusammen 49 bzw. 46,5 %) ausreichend. Der Synergismus zeigt somit nach v. Issekutz (9) gerechnet: (100 — 49 bzw. 100 — 46,5) eine Potenzierung von 51—53,5 %. — Ähnlich stark erhöhte Ephedrin die Novatropinwirkung, indem bereits 0,8 mg Ephedrin zusammen mit 0,05 mg Novatropin gegeben den Histaminanfall zu verhindern vermochten. Betrachtet man als wirksame Dosis des ersteren 8,0 mg, obgleich diese wahrscheinlich erheblich höher liegt, dann erwiesen sich 10 % von dieser und 19 % von der des Novatropins, zusammen also 29 %, als völlig wirksam; die Steigerung entspricht mithin (100 — 29 =) 71 %. Die Wirkungen der Novatropin-Sympatolkombination waren sehr schwankend; wir fanden keine Mischung, die in allen Fällen wirksam gewesen wäre. Mit 0,05 mg (= 19 %) Novatropin zusammengegeben vermochten 0,3 mg (= 25 %) Sympatol in 3 von 6 Fällen die Histaminwirkung aufzuheben. Aber selbst das Doppelte dieser Gaben 0,10 mg (= 37,8 %) Novatropin mit 0,5 mg (= 41,6 %) Sympatol blieben in 1 von 4 Versuchen wirkungslos. Von beiden Stoffen mußten also zusammen 44—79,4 % gegeben werden, die Potenzierung beträgt somit 20,6—56,0 %. — Auch zwischen Novatropin und Suprifen besteht ein mäßiger Synergismus. Erst 0,07 mg (= 26,5 %) Novatropin erwiesen sich mit 0,10 mg (= 40 %) Suprifen kombiniert als wirksam; es waren demnach zusammen 66,5 % erforderlich, d. h. die Steigerung betrug 32,5 %.

Das für sich allein wirkungslose Ephedrin unterstützt auch die Papaverinwirkung in sehr beträchtlichem Maße. Von beiden wurden 0,8 mg benötigt, was gleich 20 % der Wirkungsgabe des Papaverins und 10 % der des Ephedrins ist; die Steigerung kommt also (100 — 30 =) 70 % gleich. Diese Ephedrin-Papaverinkombination verhinderte in 3 von 4 Versuchen völlig den Histaminanfall.

In der folgenden Versuchsreihe (Tabelle 2) untersuchten wir, in welchem Maße es möglich ist, die Wirkung der Papaverin-Novatropinkombination durch Sympathicomimetica zu verstärken. Auch hier fanden wir Ephedrin als am geeignetsten, indem 0,03 mg (= 11,3 %) Novatropin zusammen mit 0,3 mg (= 7,5 %) Papaverin und 0,3 mg (= 3,8 %) Ephedrin gegeben sich als völlig wirksam herausstellten. Es war demnach möglich, die Gaben der Papaverin-Novatropinkombination durch eine geringe Menge Ephedrin in sehr erheblichem Maße herabzusetzen; die Steigerung kommt (100 — 22,6 =) 77,4 % gleich. Auch Suprifen vermochte die Wirkung der Papaverin-Novatropinkombination zu erhöhen, denn 10 % seiner wirksamen Gabe reichten, die Wirkung von 0,4 mg (= 10 %) Papaverin + 0,03 mg = (11,3 %) Novatropin zu vervollständigen; die Steigerung beträgt (100 — 31,3

Tabelle 2.

Novatropin		Papaverin		Ephedrin		Summe der Prozente	Wirkungen der Histamineinatmungen			
mg/100 g	% *	mg/100 g	%	mg/100 g	%					
0,05	19,0	0,5	12,5	0,5	6,2	37,7	0	0	0	0
0,04	15,2	0,4	10,0	0,4	5,0	30,2	0	0	+	0
0,03	11,3	0,3	7,5	0,3	3,8	22,6	0	+	0	+
0,02	7,6	0,4	10,0	0,2	2,5	20,1	++	+	++	+ ++
0,02	7,6	0,2	5,0	0,2	2,5	15,1	++	++	++	+ ++
0,015	5,7	0,15	3,7	0,15	1,9	11,3	+	++	++	++
Novatropin		Papaverin		Sympatol						
0,07	26,5	0,8	20,0	0,6	50,0	96,5	++	0	0	0
0,06	22,6	0,6	15,0	0,5	41,6	79,2	++	0	0	+
0,04	15,2	0,4	10,0	0,5	41,6	66,8	++	++	++	++
0,05	19,0	0,7	17,5	0,25	20,8	57,3	++	++	++	++
0,05	19,0	0,5	12,5	0,10	8,4	39,4	+	++	++	++
Novatropin		Papaverin		Suprifen						
0,05	19,0	0,4	10,0	0,05	20,0	49,0	0	0	0	0
0,03	11,3	0,4	10,0	0,03	12,0	33,3	0	0	0	+
0,02	7,6	0,3	7,5	0,02	8,0	23,1	+	++	++	++

* % der wirksamen Gabe.

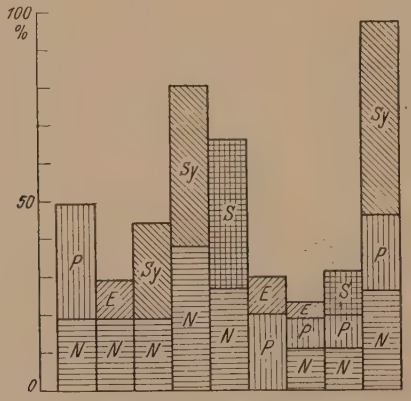


Abb. 1. N = Novatropin, P = Papaverin, E — Ephedrin, Sy = Sympatol, S = Suprifen.

=) 68,7 %. Sympatol hingegen vermochte die Wirkung der beiden anderen Stoffe fast nicht zu verstärken.

Die Versuchsergebnisse werden von Abb. 1 veranschaulicht, auf der die Höhe der verschiedenen Säulen die Zusammensetzung der Arzneimittelmischungen und in dieser das prozentuale Verhältnis der wirksamen Dosen der einzelnen Stoffe zeigen. Die Höhe der Säulen bezeichnet die Größe der Gaben, ausgedrückt in Prozenten der einzelnen wirksamen Gaben.

Obgleich wir, mit Ausnahme des Novatropins, die wirksamen Dosen der übrigen Arzneimittel nur mit annähernder Genauigkeit feststellen konnten, verstärkte sich dennoch ihre Wirkung in den Kombinationen in solch hohem Maße, daß bezüglich des tatsächlichen Bestehens eines Synergismus ganz außergewöhnlichen Ausmaßes kein Zweifel besteht, dies insbesondere zwischen Novatropin, Papaverin und Ephedrin; erwies sich doch die der Berechnung zugrunde gelegte Gabe des Papaverins von 4 mg nur in einem Teil der Versuche für sich allein als wirksam, und vielfach war eine beträchtlich größere Dosis für die Verhinderung der Histaminwirkung erforderlich. Ephedrin aber zeigte sich für sich allein in allen Versuchen als vollkommen wirkungslos, weshalb wir lediglich zwecks Durchführbarkeit der Berechnungen die Dosis von 8 mg willkürlich als wirksam annahmen.

Wir vermögen nicht zu erklären, aus welchem Grunde wir Ephedrin für sich allein als so vollkommen ohne Wirkung fanden. Diese Beobachtung steht einerseits im Widerspruch mit den klinischen Erfahrungen, nach denen sich Ephedrin für die Verhinderung asthmatischer Anfälle vielfach als geeignet erwies, andererseits machen auch pharmakologische Untersuchungen die bronchialkrampflösende Wirkung von Ephedrin unzweifelhaft. Auch nach der Feststellung Dirners (4) aber vermag Ephedrin an der überlebenden Froschlunge den Histaminkrampf — wenn auch in geringem Maße — immerhin zu lösen.

In unseren Versuchen offenbart sich die Wirkung von Ephedrin nur im Synergismus mit anderen Mitteln; hier aber kommt es erheblich stärker zur Geltung als Suprifen oder Sympatol, die sich jedoch für sich allein wirksamer als Ephedrin erwiesen. Während der zwischen Novatropin und Papaverin bestehende Synergismus unseren am Kaninchendarm gemachten älteren Erfahrungen entspricht, offenbart sich scheinbar die Rolle des Ephedrins nur in bezug auf den Brochialkrampf in sehr hohem Maße. Die Erklärung davon mag vielleicht darin zu finden sein, daß es sich beim von Histamin ausgelösten Asthmaanfall nicht allein einfach um den Krampf der Bronchialmuskulatur handelt, vielmehr spielt daneben eine Rolle auch die Lungensperre, die in den Lungengefäßen den Kreislauf verlangsamt und dort eine Stauung verursacht. Wahrscheinlich vermag Ephedrin in erster Linie auf diese Lungensperre lösend zu wirken und damit besonders die Wirkung von Novatropin und Papaverin zu unterstützen.

Zusammenfassung.

1. Der durch Histamin-Aerosoleinatmung bei Meerschweinchen ausgelöste Asthmaanfall vermochte von 0,2—0,3 mg/100 g Novatropin, 3—5 mg/100 g Papaverin, 0,3 mg/100 g Suprifen, 1,2 mg/100 g Sympatol verhindert zu werden. Ephedrin erwies sich selbst in einer Gabe von 7 mg/100 g unwirksam.

2. In den Novatropin-Papaverin-, Novatropin-Ephedrin- und Papaverin-Ephedrinkombinationen potenzieren gegenseitig die Stoffe ihre Wirkung in hohem Maße, so daß zur Erzielung der vollen Wirkung 20—30 % der wirksamen Dosis der einzelnen Substanzen ausreichen.

3. Zwischen Novatropin-Sympatol bzw. Novatropin-Suprifen besteht wohl auch ein potenzierender Synergismus, doch sind die Wirkungssteigerungen geringeren Ausmaßes.

4. Am stärksten wirkt das Arzneimittelgemisch, das Novatropin, Papaverin und Ephedrin enthält.

Literatur.

1) v. Issekutz, B.: Orv. Hetil. (Ung.) **1916**, S. 485; **1934**, S. 297. — 2) Handowsky, H.: Dtsch. med. Wschr. **1929**, S. 1423. — 3) Gordonoff, T.: Ther. Gegenw. **1931**, H. 2. — 4) Dirner, Z.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **157**, 154 (1930). — 5) Kallós, P., u. W. Págel: Acta med. scand. (Schwd.) **91**, 292 (1937). — 6) Schaumann, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 112 (1940). — 7) Behrens, B.: Ebenda **140**, 237 (1929). — 8) Kärber, G.: Ebenda **162**, 480 (1931). — 9) v. Issekutz, B.: Pflügers Arch. **145**, 448 (1912).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Die Bedeutung verschiedener Substrate für den Stoffwechsel der Gewebe.

II. Mitteilung: Glucose und Fructose*.

Von

H. Druckrey, R. Richter und **W. Rozynek**, Berlin.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 10. April 1943.)

Aus zahlreichen Untersuchungen über die Verwertbarkeit verschiedener Hexosen in den einzelnen Organen geht hervor, daß in der Verwertung der Glucose und der Fructose ein deutlicher Unterschied besteht.

So fand Minkowski (1), daß der Glykogengehalt in der Leber pankreasdiabetischer Hunde durch Verfütterung von Fructose bis um etwa das Hundertfache stärker gesteigert werden kann als durch Glucosefütterung. Neubauer (2) beobachtete in der Leber von Kaninchen nach Hunger und nach Phosphorvergiftung bei Verabreichung von Fructose einen fünfmal größeren Glykogenbestand als nach Glucose. Nagasuye (3) kam bei Untersuchungen an hungernden Hunden zu entsprechenden Ergebnissen, konnte dabei aber nachweisen, daß der Blutzuckeranstieg nach Glucose größer war als nach Fructose. Wierzuchowski und Fiszel (4) untersuchten den Gehalt des Blutes an Fructose und Glucose in Arterien, der Pfortader und der Lebervene nach intravenöser Infusion von 2 g Fructose bzw. Glucose pro kg und Stunde. Auch hierbei wurde eine stärkere Verwertung der Fructose in der Leber gegenüber Glucose beobachtet. — Aus allen diesen Befunden läßt sich ersehen, daß die Leber Fructose besser auszuwerten vermag als Glucose. Das gleiche gilt nach Steinberg (5) auch für die Lunge.

Andere Organe können dagegen Glucose besser verwerten als Fructose. So wies z. B. Rona (6) nach, daß der isolierte ermüdete Kaninchendarm sich bei Zusatz von Glucose sichtlich erholt, nicht aber nach Fructose. Gaddie und Steward (7) zeigten, daß das unter aeroben Bedingungen schlagende Froschherz nach Verbrauch der Glykogenreserven trotz Angebot von Fructose seine Funktion einstellt; nach Zufuhr von Glucose oder Mannose konnte es dagegen sein Substrat ergänzen. Nach Untersuchungen von MacLean und Smedley (8) nimmt das isolierte Hundeherz zwar auch Fructose auf, die Verwertung von Glucose ist aber auch hier höher.

* Durchgeführt mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Bekannt ist ferner die zuverlässige und schnelle Wirksamkeit der Glucose im hypoglykämischen Zustand, in dem Fructose wenig nützt. Demgegenüber fand Bornstein (9) am Gasstoffwechsel des Menschen, daß der respiratorische Quotient nach Gaben von Fructose schneller und höher anstieg als nach Glucose. Die gleichen Beobachtungen machten auch Wierzuchowski und Mitarbeiter (10). Daraus schlossen diese Autoren dann ohne weiteres, daß die Fructose schneller und besser oxydiert wird als die Glucose. Hier bestehen also Widersprüche.

Wegen der großen praktischen Bedeutung dieser Fragen haben wir uns nochmals mit Untersuchungen über die Verwertbarkeit von Fructose und Glucose beschäftigt, und zwar durch Stoffwechselversuche an isolierten Geweben selbst. Als Versuchsobjekte dienten uns die Speicheldrüsen der Katze, die Samenkanälchen des Rattenhodens und das isolierte Lebergewebe der Ratte.

Wir benutzten die Methode der indirekten Atmungsmessung nach Warburg. Über technische Einzelheiten der Methodik siehe Arbeiten von Druckrey (11) und Mitarbeiter (12).

I.

Die ersten Versuche nahmen wir an Speicheldrüsengewebe vor. Dies ist deshalb für solche Versuche besonders geeignet, weil es auf Reize wie sie z. B. durch Zusatz des physiologischen Erregungsstoffes Acetylcholin ausgelöst werden können, mit einer charakteristischen Stoffwechselsteigerung reagiert (13). Die Auslösbarkeit dieser Reaktion setzt indessen das Angebot eines verwertbaren Substrates voraus, ohne ein solches kann sich das Gewebe nach einem vorangegangenen Reiz nicht erholen, reagiert also auf weitere Reize nicht mehr. Der Zusatz eines geeigneten Substrates stellt dann die Reaktionsfähigkeit voll wieder her. Man kann also mit dieser Versuchsanordnung die Frage entscheiden, ob ein bestimmtes Substrat vom Speicheldrüsengewebe verwertet werden kann oder nicht. Davon haben wir in verschiedenen Fällen mit Erfolg Gebrauch gemacht (14) und z. B. auch schon festgestellt, daß Glucose ausgezeichnet verwertet werden kann.

Zunächst haben wir untersucht, ob die Glucose unmittelbar und sofort für den Erregungsstoffwechsel verwertet werden kann, oder ob zunächst ein Aufbau eines besonderen Substrates aus der angebotenen Glucose erfolgen muß. Dies geschah in der Weise, daß die Glucose (200 mg% Endkonzentration) der substratfreien Ringerlösung aus einer Anhangsbirne der Versuchsgefäße erst in dem Augenblick zugesetzt wurde, in dem auch die Reizung durch Acetylcholin erfolgte. Könnte die Glucose nach der Aufnahme durch die Zelle unmittelbar als Substrat dienen, so müßte nun der charakteristische Erregungsstoffwechsel auftreten. Das war aber nicht der Fall (Abb. 1a). Wir haben dann dem Gewebe Zeit zur Assimilation der Glucose gelassen und nun den Reiz durch erneuten Zusatz von Acetyl-

cholin in verschiedenen Abständen vom Glucosezusatz wiederholt. Es zeigte sich, daß das Speicheldrüsengewebe nach dem Glucosezusatz etwa 60—90 Minuten gebraucht, um wieder erregbar zu werden. Diese Zeit ist so lang, daß sie sich durch die bloße Resorption des Kohlehydrats durch die Zellen nicht voll erklären läßt, vielmehr auf den Aufbau eines besonderen Substrats aus der angebotenen Glucose hindeutet (13).

Mit der gleichen Versuchsanordnung haben wir dann auch die Verwertbarkeit der Fructose im Erregungsstoffwechsel der Speicheldrüse geprüft. Die Versuche geben auf die gestellte Frage eine vollkommen klare Antwort. Der gleichzeitige Zusatz von Fructose im Augenblick der Reizung erwies sich zunächst als ebenso wirkungslos, wie dies bei der Glucose der Fall war. Während aber die Glucose nach etwa 60 Minuten die Reaktionsfähigkeit voll wiederherstellte und demgemäß als Substrat ausgezeichnet verwendet werden konnte, trat in den analogen Versuchen mit Fructose auch nach 80 Minuten entweder gar keine oder nur eine ganz geringe Reaktion des Stoff-

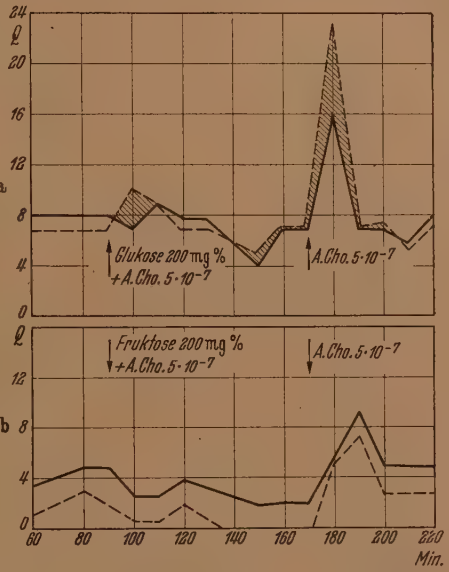


Abb. 1. Stoffwechselablauf von Gewebsschnitten der Speicheldrüse bei Angebot von Glucose (Abb. 1a) und von Fructose (Abb. 1b).
Ausgezogene Linie: Sauerstoffverbrauch;
gestrichelte Linie: Gesamt-CO_2-Bildung (beide Linien in cmm/h/mg = Q).
Schraffiertes Feld: „Extrakohlensäure" = aerobe Säurebildung.
Bei den Pfeilen: Einkippen des Zuckers (Endkonzentration 200 mg%) bzw. von Acetylcholin (Endkonzentration 1 : 2000000).

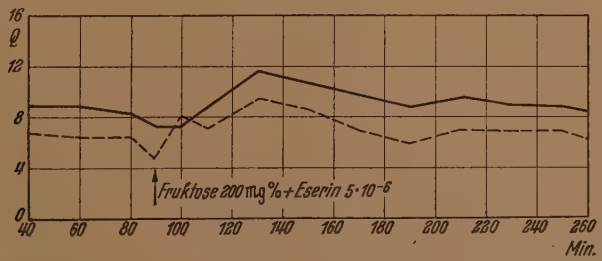


Abb. 2. Stoffwechselablauf von Speicheldrüsenschnitten. Auch die Wirkung von Eserin (1 : 200000) bleibt bei Angebot von Fructose als Substrat aus.

wechsels auf den Zusatz von Acetylcholin ein (Abb. 1b). Fructose wird also von der Speicheldrüse, wenn überhaupt, so nur sehr langsam angegriffen.

Noch klarer kamen diese Verhältnisse zum Ausdruck, wenn die Reizung des Gewebes nicht durch Acetylcholin, sondern durch Physostigmin er-

folgte; bei ausreichendem Angebot von Glucose bewirkt dies Alkaloid eine stundenlang anhaltende Steigerung des Stoffwechsels um ein Vielfaches mit kräftiger Säurebildung. Dagegen erwies sich die Fructose auch hier als ein praktisch vollkommen ungeeignetes Substrat (Abb. 2).

Diese Versuche am Speicheldrüsengewebe erscheinen deshalb besonders aufschlußreich, weil aus ihnen ja nicht nur die Verwertbarkeit eines Substrates für den einfachen Ruhestoffwechsel zu erkennen ist, sondern vor allem die viel wichtigere Verwertbarkeit im Erregungsstoffwechsel. Daß die Glucose so viel besser verwertet wird als die Fructose, ist deshalb überraschend, weil die Fructose in vitro wesentlich leichter autoxydabel ist als Glucose. In der lebenden Zelle können die Verhältnisse also ganz anders liegen.

II.

Anschließend wurden Glucose und Fructose als Substrat am Hodengewebe der Ratte untersucht. Der Hoden hat in glucosehaltiger Ringerlösung einen kräftigen Sauerstoffverbrauch und eine starke „aerobe Glykolyse" (nur bei Untersuchungen im Serum findet man eine reine Atmung). Zunächst prüften wir das Verhalten des Hodenstoffwechsels in substratfreier Lösung. Er sank unter diesen Umständen in kurzer Zeit auf sehr niedrige Werte ab und hörte dann ganz auf; das Gewebe ging zugrunde. Eine Glykolyse fehlte unter diesen Umständen von Anfang an völlig. Es treten also durch den Substratmangel ganz klar faßbare Ausfallserscheinungen auf.

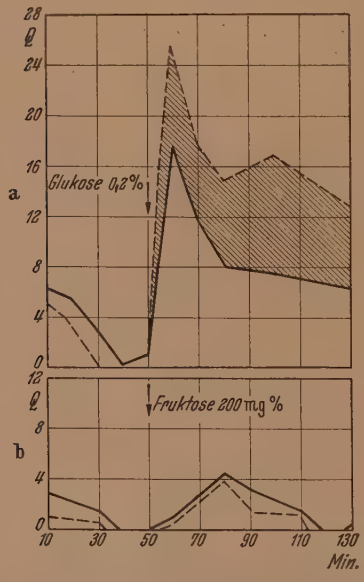


Abb. 3. Stoffwechselablauf von Hodengewebe. In substratfreier Lösung sinkt der Stoffwechsel schnell katastrophal ab. Zusatz von Glucose stellt den normalen Stoffwechsel mit kräftiger Säurebildung sofort wieder her (Abb. 3a), Fructose ist praktisch ohne Wirkung (Abb. 3b).

Wir haben dann untersucht, inwieweit sich die Störungen durch Zusatz von Glucose oder Fructose wieder beseitigen lassen. Das gelang mit Glucose prompt. Innerhalb weniger Minuten stieg die Atmung auf das Zehnfache wieder an (Abb. 3a), gleichzeitig begann eine starke Säurebildung („Glykolyse"). Die Glucose wird vom Hodengewebe also ausgezeichnet verwertet und zwar zum Unterschied vom Speicheldrüsengewebe sogar sofort angegriffen. Ganz anders war das Bild bei entsprechenden Versuchen mit Fructose als Substrat. Hier war praktisch überhaupt keine Wirkung zu erkennen, das Gewebe ging trotz Angebot von Fructose genau so zugrunde, wie in Versuchen ohne Substrat (Abb. 3b). Am Hoden ist Fructose demnach als

Substrat noch ungeeigneter als an der Speicheldrüse. Diese Ergebnisse machen es also ebenfalls verständlich, daß die Fructose im hypoglykämischen Zustand zum Unterschied von der Glucose versagt.

III.

Für die Umsetzung der Hexosen hat die Leber eine zentrale Bedeutung. Deshalb erschien es uns notwendig, entsprechende Versuche auch am Lebergewebe anzustellen. Lebergewebe hat auch in substratfreier Ringerlösung einen über Stunden gleichbleibenden Ruhestoffwechsel mit reiner Atmung. Als Substrat dient hier mit aller Wahrscheinlichkeit das reichlich vorhandene zelleigene Glykogen. Zugabe von Glucose zu der substratfreien Ringerlösung verursachte, wie Abb. 4a zeigt, praktisch gar keine Veränderung des Stoffwechsels. Wurde dagegen Fructose in die substratfreie Lösung eingekippt, so trat sofort eine beträchtliche und langdauernde Säurebildung auf (Abb. 4b), die noch nach 150 Minuten nachzuweisen war. Der Sauerstoffverbrauch stieg dabei jedoch nicht an, zeigte vielmehr eher die Tendenz zu einer allmählichen Abnahme.

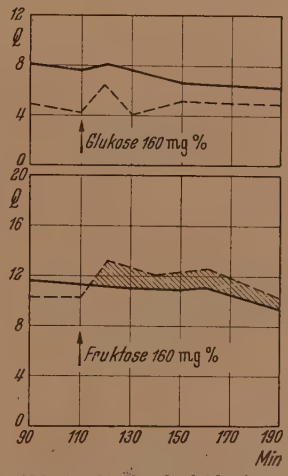


Abb. 4. Stoffwechselablauf von Lebergewebe der Ratte. Zusatz von Glucose beeinflußt den Stoffwechsel praktisch gar nicht (Abb. 4a), Fructose löst prompt eine Säurebildung aus (Abb. 4b).

Die Zugabe von Fructose führt am Lebergewebe also vor allem zu einer Bildung „fixer Säuren". Das entspricht auch den Befunden der Literatur. Oppenheimer (15) fand, daß Fructose bei der Durchblutung überlebender glykogenfreier Leber von hungernden Hunden erhebliche Mengen von Milchsäure liefert, bedeutend mehr als Embden und Kraus (16) bei gleichartigen Versuchen mit Glucose beobachtet haben. Auch Wierzuchowski und Sekuracki (17) konnten nachweisen, daß die Leber aus der zugeführten Fructose neben Glykogen zu einem großen Teil rasch Milchsäure bildet und diese ins Blut abgibt.

Diese Ergebnisse müssen für die Deutung der oben erwähnten Befunde von Bornstein (9) und von Wierzuchowski (10) herangezogen werden, die lediglich aus dem schnellen Ansteigen des respiratorischen Quotienten nach Fructosegaben beim Menschen auf eine raschere Verbrennung der Fructose schlossen. Dieser Anstieg des respiratorischen Quotienten wird jedoch nach den hier erörterten Befunden wenigstens zum Teil nur vorgetäuscht sein, nämlich dadurch, daß die nach Fructosegaben in der Leber gebildete Milchsäure aus dem Bicarbonat des Organismus zusätzlich CO_2 ausgetrieben hat, wodurch naturgemäß die Gesamt-CO_2-Ausscheidung und damit auch der respiratorische Quotient zunimmt. Eine entsprechende Berechnung der zahlenmäßigen Angaben in den Protokollen der genannten

Autoren ergibt, daß sich sogar ein beträchtlicher Teil der Zunahme der CO_2-Ausscheidung auf diese Weise erklären läßt.

Trotzdem ist natürlich zu sagen, daß die Fructose überall da am Platze ist, wo eine besonders starke Erhöhung der CO_2-Ausscheidung gewünscht wird. Und damit kommen wir zu den praktischen Fragen, die diese Versuche veranlaßt haben. — Seit langem ist die Anwendung der Glucose als Leberschutzmittel in der menschlichen Therapie in Gebrauch. Aus den in der Literatur zitierten Befunden ließ sich jedoch schon ersehen, daß die Leber Fructose um ein Vielfaches besser auszuwerten vermag als Glucose. Wir konnten diese Befunde in den oben beschriebenen Untersuchungen bestätigen und nachweisen, daß auch am isolierten Lebergewebe die Fructose als Substrat praktisch sofort angegriffen wird, die Glucose dagegen nicht sichtbar. Da aber die Mehrzahl der übrigen Gewebe die Glucose besser verwertet, dürfte in der Therapie die gleichzeitige Verwendung beider Zucker, also des „Invertzuckers", vorteilhaft sein.

Zusammenfassung.

1. In Stoffwechselversuchen an Gewebsschnitten von Speicheldrüsen wurde gezeigt, daß die Glucose als Substrat für dies Gewebe ausgezeichnet geeignet ist. Fructose wurde dagegen weitaus schlechter und langsamer angegriffen.

2. Rattenhodengewebe geht bei Abwesenheit eines verwertbaren Substrates meist schnell zugrunde. Zusatz von Glucose bewirkt eine schnelle und vollständige Wiederherstellung des Stoffwechsels. Glucose wird also vom Hoden verwertet. Fructose hatte dagegen keine sichtbare Wirkung.

3. An Leberschnitten bewirkte der Zusatz von Fructose sofort eine beträchtliche und langdauernde Säurebildung. Hier hatte Glucose keine sichtbare Wirkung. Lebergewebe kann also Fructose schneller und besser verwerten als Glucose.

4. Verschiedene Gewebe verhalten sich also nicht nur in vivo den beiden untersuchten Hexosen gegenüber verschieden, sondern behalten diese Eigenschaft auch in vitro bei.

Literatur.

1) Minkowski, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **31**, 85 (1893). — 2) Neubauer, E.: Ebenda **61**, 174 (1909). — 3) Nagasuye: J. Biochem. (Jap.) **5**, 449 (1925). — 4) Wierzuchowski u. Fiszel: Biochem. Z. **283**, 30 (1935). — 5) Steinberg, S. J.: Pflügers Arch. **217**, 686 (1927). — 6) Rona, P., u. P. Neukirch: Ebenda **144**, 555 (1912). — 7) Gaddie u. Steward: J. Physiol. (Brit.) **80**, 457 (1934). — 8) Mac Lean u. Smedley: Ebenda **45**, 462 (1912). — 9) Bornstein u. Hohn: Biochem. Z. **130**, 209 (1922). — 10) Wierzuchowski u. Laniewski: Ebenda **330**, 123 (1931). — 11) Druckrey, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **180**, 231 (1936). — 12) Druckrey, H., N. Brock u. H. Herken: Ebenda **191**, 687 (1939). — 13) Brock, N., H. Druckrey u. H. Herken: Biochem. Z. **300**, 1 (1938). — 14) Loch, W.: Diss. Berlin 1939; Brock, N., H. Druckrey u. W. Loch: Bioch. Z. **313**, 300 (1942). — 15) Oppenheimer, S.: Ebenda **45**, 1 (1912). — 16) Embden u. Kraus: Ebenda **45**, 30 (1912). — 17) Wierzuchowski u. Sekuracki: Ebenda **276**, 91 (1935).

Aus der Universitäts-Hautklinik Marburg a. d. Lahn (Direktor: Prof. Dr. Ruete) und dem Pharmakologischen Institut der Universität Marburg.

Die Wirkung mehrerer Narkotica auf die Aktivität der Cholinesterase des Blutes*.

Von

F. Heim und W. Rohde.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 21. März 1943.)

Durch die Untersuchungen von Löwi[1], Dale und seinen Mitarbeitern[2], Gremels[3] u. a. ist der Nachweis erbracht worden, daß das Azetylcholin der chemische Überträgerstoff der Vaguswirkung ist. Das Azetylcholin wird bei Vagusreizung an den peripheren Nervenendigungen in den Organen gebildet und wirkt durch sein Eindringen in die Zellen als Reiz. Das Blut, die Gewebsflüssigkeit und die Körperzellen enthalten ein Ferment, die sogenannte Cholinesterase, durch die das Azetylcholin gespalten und somit physiologisch unwirksam wird. Der jeweilige Aktivitätsgrad der Cholinesterase bestimmt somit den jeweiligen Wirkungsgrad des an den Nervenendigungen des vagischen Systems gebildeten Azetylcholins.

Es ist eine größere Zahl von Pharmaka bekannt, die die Aktivität der Cholinesterase nicht unwesentlich beeinflussen. Die stärkste hemmende Wirkung auf dieses Ferment haben das Prostigmin und Physostigmin. Ersteres hemmt die Cholinesterase vollkommen schon in einer Konzentration von 1 : 1 Million. Die fermenthemmende Wirkung beginnt schon bei einer Konzentration von 1 : 300 Millionen wie von Genuit und Labenz[4] kürzlich gezeigt wurde. In mehr unspezifischer Weise wird die Aktivität der Cholinesterase durch Narkotica und Hypnotica beeinflußt, wie von Heim und Fahr[5] nachgewiesen werden konnte. Die fermenthemmende Wirkung der Narkotica konnte durch die Untersuchungen von Genuit und Labenz[4] bestätigt werden. Heim und Fahr[5] konnten neben der fermenthemmenden Wirkung höherer Narkoticakonzentrationen auch einen Ferment aktivierenden Einfluß kleinster Narkoticakonzentrationen feststellen. Nachdem durch Untersuchungen von Heim[6], Kochmann[7], Wels[8], Dette[9], Barbour[10], Sivadjian[11] u. a. gezeigt worden war, daß

* Mit Unterstützung durch den Reichsforschungsrat.

[1] Löwi: Pflügers Arch. **189**, 239 (1921); **193**, 201 (1922). — [2] Dale u. Mitarbeiter: Brit. med. J. **1934**. — [3] Gremels: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 625 (1937). — [4] Ebenda **198**, 369 (1941). — [5] Ebenda **195**, 59 (1940). — [6] Biochem. Z. **291**, 88 (1937); Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 212 (1938); **192**, 1 (1939). — [7] Biochem. Z. **136**, 49 (1923). — [8] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **116**, 67 (1926). — [9] Biochem. Z. **149**, 136 (1924). — [10] Sci. (N. V.) **73**, 346 (1931). — [11] Bull. Sci. pharmacol. **40**, 292 (1933).

Narkotica und Hypnotica in niedrigen Konzentrationen auf Kolloide insbesondere auf Eiweißkörper quellungsfördernd und in höheren Konzentrationen entquellend wirken, versuchten Heim und Fahr[5], die fermentaktivierende Wirkung kleinster Narkoticamengen mit der quellungsfördernden und den fermenthemmenden Einfluß höherer Narkoticakonzentrationen mit der entquellenden Wirkung auf Kolloide in Zusammenhang zu bringen. Denn bei der Cholinesterase des Blutes wird es sich sicher auch um ein Ferment handeln von typischem Bau, bestehend aus einer spezifisch gebauten aktiven Gruppe und einem kolloidalen Fermentträger, der wohl ein Eiweißkörper sein dürfte. Schon die Tatsache, daß die spezifisch gebauten Gruppen eines Ferments nur in Verbindung mit dem kolloidalen Fermentträger ihre Wirkung zu entfalten vermögen, legt die Vermutung nahe, daß Änderungen im physikalisch-chemischen Zustand des kolloidalen Fermentträgers nicht ohne Einfluß sind auf die Wirkung des Fermentkomplexes.

Methode.

In ihren Versuchen über den Einfluß von Narkotica auf die Aktivität der Cholinesterase des Blutes haben sich Heim und Fahr[5] der pharmakologischen Methode bedient. Es wurden 0,1 ccm Blut mit 2 oder 3 γ Azetylcholin versetzt und nach 10 Min. die noch unzerstörte Azetylcholinmenge am Blutdruck ausgetestet. Daraufhin wurde nach Zusatz der zu untersuchenden Narkotica in der gleichen Weise verfahren. In der vorliegenden Untersuchung haben wir uns der von Ammon[12] angegebenen Methode bedient, die genaue quantitative Messungen zuläßt, aber den Nachteil hat, daß man sehr kleine Mengen Ferment auf ganz unphysiologisch große Mengen Azetylcholin einwirken lassen muß. Die von Ammon[12] angegebene Methode besteht im wesentlichen darin, daß die bei der Spaltung des Azetylcholins freiwerdende Essigsäure aus einer gepufferten bicarbonathaltigen Ringerlösung eine entsprechende Menge Kohlensäure austreibt, die manometrisch gemessen wird. Im einzelnen wurde folgendermaßen verfahren: In die Tröge, die an die Manometer angeschlossen werden, wurden 3 ccm einer 0,5 %igen Azetylcholinchlorid-Ringerlösung pipettiert. In die Ansatzstücke kamen 0,5 ccm frisches Menschenserum. Das Serum wurde mit 0,5 ccm Ringerlösung verdünnt, die — mit Ausnahme des Kontrollversuchs — die zu untersuchenden Narkotica in verschiedener Verdünnung enthielt. Vor Beginn des eigentlichen Versuchs wurden die mit den oben genannten Flüssigkeiten beschickten Tröge 10 Min. lang mit einem aus 5 % Kohlensäure und 95 % Stickstoff bestehenden Gasgemisch durchströmt und nach Verschluß der Tröge durch Schütteln in einem Wasserbad, das auf genau 37,5° C eingestellt war, der Temperaturausgleich abgewartet. Aus der zu Beginn des Versuchs und nach 30 Minuten

[12] Pflügers Arch. **233**, 486 (1933).

an den Manometern abzulesenden Druckdifferenz ergeben sich durch Umrechnung die innerhalb von 30 Min. durch Spaltung des Azetylcholins freiwerdenden cmm CO_2. Es wurden von uns 7 der gebräuchlichsten Narkotica und Hypnotica untersucht und zwar: Chloralhydrat, Veronal-Na, Luminal-Na, Evipan-Na, Avertin, Chloroform und der Äthylalkohol. Der untersuchte Konzentrationsbereich ging von 0,003 bis 0,75 %.

Versuche.

Unter Verzicht auf Mitteilung der Einzelergebnisse wurde in einer Abbildung der Einfluß der untersuchten Narkotica und Hypnotica auf

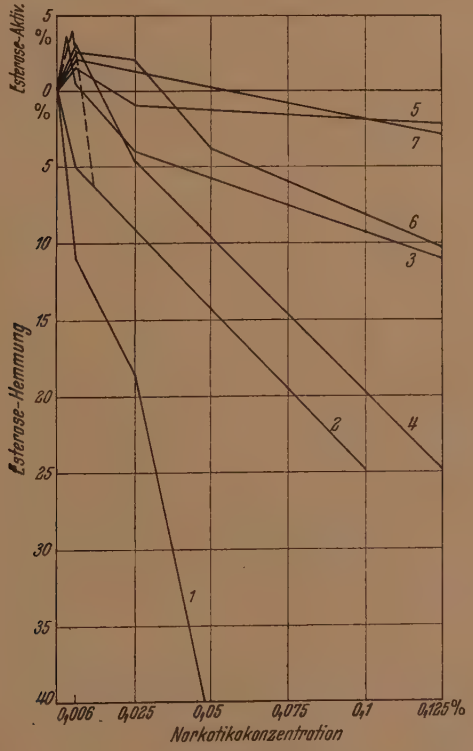


Abb. 1.

1 = Chloralhydrat,
2 = Veronal-Na,
3 = Luminal-Na,
4 = Evipan-Na,
5 = Avertin,
6 = Chloroform,
7 = Äthylalkohol.

die Aktivität der Cholinesterase des Blutes graphisch dargestellt. Wie aus der Abbildung hervorgeht, üben die untersuchten Narkotica mit Ausnahme des Chloralhydrates in niedrigen Konzentrationen einen, wenn auch geringen, aktivierenden Einfluß aus. Er liegt zwischen 1,5 und 4 %. In

höheren Konzentrationen besitzen alle Narkotica eine fermenthemmende Wirkung. In der Abbildung haben wir uns auf einen Konzentrationsbereich von 0,003—0,125 % reichend beschränkt. Denn in Konzentrationen über 0,125 % üben alle Narkotica in zunehmendem Maße einen hemmenden Einfluß auf die Cholinesterase aus. Beim Veronal-Na konnte in einigen Versuchen ein aktivierender Einfluß niedrigster Konzentrationen beobachtet werden. In anderen Versuchen fehlte er. Es wurde deshalb in der Abbildung der aktivierende Einfluß kleinster Veronalmengen gestrichelt gezeichnet. Stets, auch in den allerniedrigsten Konzentrationen, wirkt das Chloralhydrat hemmend auf die Cholinesterase. Das Chloralhydrat wirkt unter allen untersuchten Narkotica am stärksten hemmend auf das Esteraseferment.

Durch diese Untersuchungen ist erneut bewiesen, daß Narkotica und Hypnotica in niedrigsten Konzentrationen auf die Cholinesterase aktivierend wirken und erst in höheren Konzentrationen in zunehmendem Maße die Tätigkeit des Ferments hemmen. Genuit und Labenz[4] sahen auch von niedrigsten Narkoticakonzentrationen keinen aktivierenden Einfluß auf die Cholinesterase. Doch ist dabei zu berücksichtigen, daß sie nicht die Cholinesterase des Blutes, sondern des Herzmuskels untersuchten und sich einer von unseren Methoden vollkommen abweichenden Methode bedienten.

Zusammenfassung.

Es wurde der Einfluß einiger Narkotica und Hypnotica auf die Aktivität der Cholinesterase des Blutes nach der von Ammon angegebenen Methode untersucht. Mit Ausnahme des Chloralhydrates üben in niedrigsten Konzentrationen die untersuchten Pharmaka einen aktivierenden Einfluß, in höheren Konzentrationen in zunehmendem Maße einen hemmenden Einfluß auf die Cholinesterase des Blutes aus. Chloralhydrat wirkt in allen Konzentrationen fermenthemmend.

Aus dem Pharmakologisch-Pharmakognostischen Institut der Deutschen Karls-Universität in Prag. (Direktor: Prof. Dr. Gustav Kuschinsky.)

Über Herkunft und Eigenschaften der diuresefördernden und chloridausschwemmenden Substanz aus dem Hypophysenhinterlappen*.

Von

Rudolf Hotovy.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 11. April 1943.)

Nachdem G. Kuschinsky und H. Bundschuh[1] eine chloridausschwemmende und diuretische Substanz im Hypophysenhinterlappen (HHL.)-Präparat Orasthin nachweisen konnten, war die Frage, ob diese Substanz aus dem HHL. oder Hypophysenvorderlappen (HVL.) stamme, nicht ganz eindeutig geklärt. Draper[2] konnte auch eine diuresefördernde Wirkung von HHL.-Präparaten beim nichtnarkotisierten Hund beschreiben. Auch vom HVL. ist eine diuresesteigernde Wirkung bekannt. Werner[3] glaubt, daß diese Substanz das corticotrope Hormon sein muß. Die Diurese würde dann nur indirekt von der Hypophyse ausgehen. Werner nimmt an, daß die Diurese durch den HVL. und die Diuresehemmung durch den HHL. erzeugt wird, denn bei totaler Hypophysektomie tritt kein Diabetes insipidus auf. Allerdings kann er eine Mitwirkung der Schilddrüse nicht ablehnen. Asa und Decaneas[4], ferner Loubatière[5] konnten bei Hunden, die dauernd HVL.-Extrakte erhielten, eine allerdings erst nach 2—4 Tagen auftretende Diurese feststellen.

Shapiro[6] konnte gleichzeitig mit der Hemmung der Vorderlappensekretion durch Ostradiolbenzoat eine Diuresehemmung und nach Absetzen des Mittels eine überschießende Wasserausscheidung feststellen. Bei Zufuhr von HVL.-Präparaten konnte er eine Diuresesteigerung erzielen. Da auch das thyreotrope Hormon bei längerer Verabreichung durch die Aktivierung der Schilddrüse eine Diuresesteigerung hervorruft, so könnte wenigstens zum Teil die diuretische Wirkung von HVL.-Extrakten, die längere Zeit verabreicht wurden, auf einer Aktivierung der Schilddrüse beruhen. Von Rothschild, Staub und Mezey[7] ist aber auch gezeigt worden,

* Die Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft unterstützt.

[1] Kuschinsky, G., u. H. Bundschuh: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 683 (1939). — [2] Draper, W. P. Amer. J. Physiol. **89**, 273 (1929). — [3] Werner, Paul: Wien. Arch. inn. Med. **32**, 189 (1938). — [4] Asa u. Decaneas: Ebenda **33**, 349 (1940). — [5] Loubatière, Auguste: C. r. Soc. Biol. **208**, 1933 (1939). — [6] Shapiro, B. G.: Lancet **235**, 1457 (1938); J. Physiol. (Brit.) **92**, 3P -4P (1938). — [7] Rothschild, F., H. Staub u. K. Mezey: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 61 (1933).

daß das thyreotrope Hormon kurz nach Verabreichung an mit thyreotropischem Hormon vorbehandelten Tieren ebenfalls eine Diurese verursachen kann und daß dieser diuresesteigernde Faktor kochbeständig ist.

Im folgenden seien die Versuchsergebnisse über Untersuchungen zur Frage mitgeteilt, ob die chloridausschwemmende-diuretisch-wirkende Substanz aus dem Hinterlappenpräparat Orasthin aus dem HVL. oder HHL. stamme.

Methodik.

Als Versuchstiere wurden männliche Ratten im Gewicht von 150 bis 250 g verwendet. Die Nahrung bestand aus einem Gemenge von Gerste und Mais. Das Wasser wurde aus hängenden Trinkgefäßen angeboten. Während des Versuchs waren die Tiere ohne Wasser. In den ersten Versuchen erhielten die Tiere mit der Magensonde je 3 ccm Wasser, in den späteren Versuchen wurde immer Wasser von 2,5 % des Körpergewichts verabreicht. Im übrigen wurde wie bei den Versuchen von Kuschinsky und Bundschuh verfahren. Die Durchschnittswerte der einzelnen Tabellen stammen immer von 4 Rattengruppen (pro Gruppe 4 Ratten). Zum besseren Vergleich der einzelnen Versuche wurden immer dieselben Gruppen herangezogen. Es wurde immer ein Normalversuch vor dem eigentlichen und einer nach dem Hauptversuch angegeben, um eventuelle Nachwirkungen zu sehen.

Für die Versuche wurden folgende Präparate verwendet: Preloban (HVL.-Präparat), Pretiron (thyreotropes Hormon), Schweine-HVL.-, Schaf-HVL.-, Schweinehypophysen-, Schaf-HHL.-, Rinderhypophysenextrakte*, Orasthin, Tonephin und Oxytocin Schering verwendet. Die Extrakte für die einzelnen Versuche werden folgendermaßen hergestellt: 300 mg Hypophysen-Aceton-Trockenpulver wurden mit 50 ccm 0,25 %iger Essigsäure extrahiert, 1 Minute lang gekocht und 0,5 ccm dieses Extraktes wurden jeder Versuchsratte subcutan injiziert. Als Vergleich der Diurese wurde die Wirkung von 150 Millieinheiten Orasthin (1 Millieinheit = 0,001 Vögtlin-Einheit) herangezogen.

Versuchsergebnisse.

Untersuchungen über verschiedene HVL.-Präparate.

Um die Wirkung von HVL.-Hormon auf die Wasserdiurese zu sehen, wurde zunächst das HVL.-Präparat Preloban untersucht. Es zeigte sich, daß Preloban keine diuretische Wirkung in den ersten 6 Stunden besitzt. Preloban wies im Gegenteil eine Diuresehemmung auf, die über 4 Stunden anhält. Der Grund zu dieser Hemmung wird wahrscheinlich eine Verunreinigung mit Vasopressin sein. Denn Tonephin zeigt einen ähnlichen

* Diese Organpräparate, sowie auch das thyreotr. Hormonpräparat Pretiron wurden uns in dankenswerter Weise von Dr. Junkmann von der Firma Schering, Berlin, zur Verfügung gestellt.

Diureseverlauf. Die Chlorausschwemmung ist nicht erhöht. Sie betrug bei den beiden Normalversuchen Cl abs. 17,45 und 17,4 mg, bei Preloban 14 mg und bei dem Orasthinversuch 23,7 mg (Abb. 1).

Zur weiteren Aufklärung der HVL.-Wirkung wurden HVL.-Fraktionen von verschiedenen Tieren untersucht und zwar von Schweine-, Schaf- und Rinder-HVL.

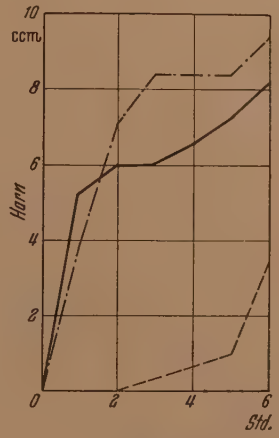


Abb. 1.
—— Normale Diurese.
—·— Orasthin 1 VE. i. v.
– – Preloban 12,5 RE. sc.

1. Rinder-HVL.-Extrakt.

Es zeigte sich, daß der Rinder-HVL.-Extrakt überhaupt nicht diuretisch wirksam ist, sondern eher etwas diuresehemmend. Die Chlorausscheidung war normal (Abb. 2A).

2. Schaf-HVL.-Extrakt.

Es ließ sich feststellen, daß dieser HVL.-Extrakt auch nicht diuretisch wirkt, sondern er zeigt in den ersten 2 Stunden eine Diuresehemmung. Die Chloridausscheidung war auch nicht erhöht (Abb. 2B).

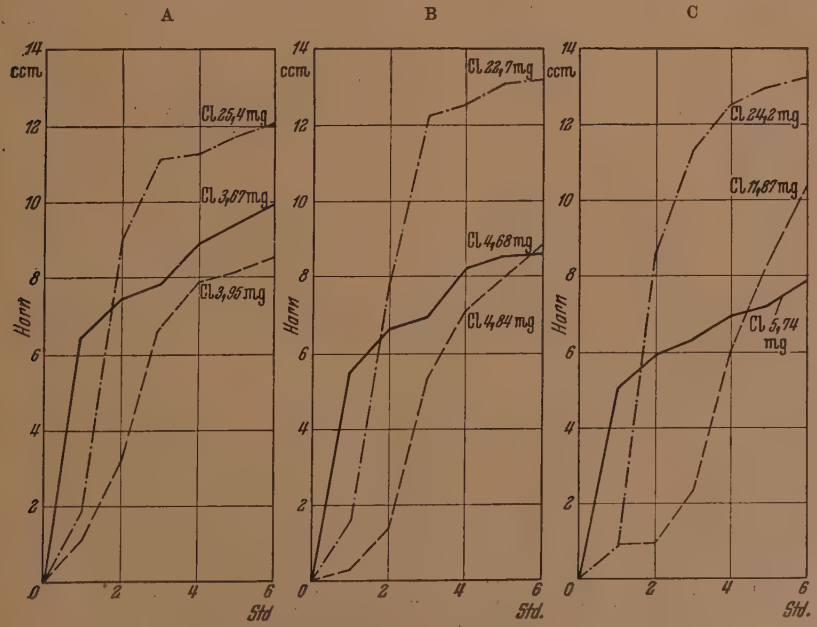


Abb. 2. Durchschnittswerte von 4 Versuchen: je 4 Ratten.
———— Normale Wasserdiurese,
—·—·— 150 Milli-E. Orasthin.
A. — — — — Rinderhypophysen-VL.-Extrakt.
B. — — — — Schaf-HVL.-Extrakt.
C. — — — — Schweine-HVL.-Extrakt.

3. Schweine-HVL.-Extrakt.

Dieser bewirkt in den ersten 3 Stunden eine Diuresehemmung und darauf eine Diuresesteigerung von ungefähr 20 % gegenüber normal. Die Chloridausscheidung der ersten 4 Stunden war um 100 % gegenüber der normalen Ausscheidung gestiegen. Die Diuresesteigerung in der 4., 5. und 6. Stunde ist darauf zurückzuführen, daß nach der Diuresehemmung (Vasopressinwirkung) oft das vorher zurückgehaltene Wasser nachträglich ausgeschieden wird (Abb. 2 C).

Untersuchungen über verschiedene Gesamthypophysen und HHL.-Präparate.

1. Rinderhypophysenextrakt.

Der Extrakt zeigt eine Hemmung der Diurese. Die Chlorausschwemmung (4-Stunden-Wert) ist dabei verzehnfacht (Abb. 3 A).

Der Kontrollversuch, 18 Tage nach der Hormonverabreichung, zeigt eine gewaltige Diuresesteigerung nach dem Wasserstoß. Dieser Versuch zeigt, daß es zu einer ähnlichen Erscheinung gekommen ist, wie es auch

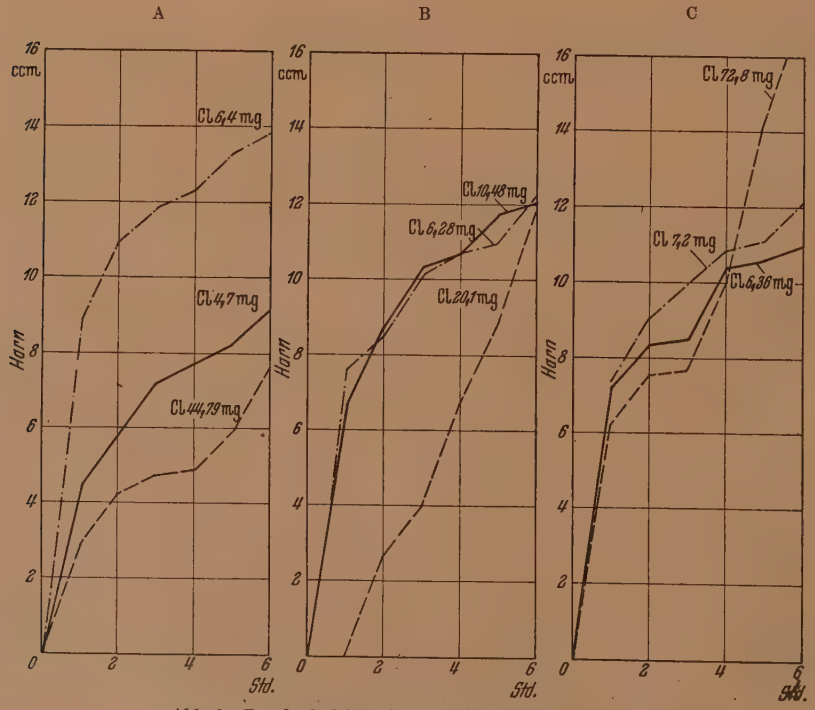


Abb. 3. Durchschnittswerte aus 4 Versuchen: je 4 Ratten.
———— Normale Wasserdiurese (18. VI. 41).
— · — · — Normale Wasserdiurese (8. VII. 41).
A. — — — — Rinderhypophysenextrakt (26. VI. 41).
B. — — — — Schaf-HHL.-Extrakt (26. VI. 41).
C. — — — — Schweinehypophysenextrakt (26. VI. 41).

Versuche mit Orasthin bei Hunden zeigten, die gesondert mitgeteilt werden sollen.

2. Schafhypophysenhinterlappenextrakt.

Dieser wirkt in den ersten 3 Stunden diuresehemmend und die Chlorausschwemmung ist verdoppelt.

Nachwirkungen wurden nicht festgestellt (Abb. 3B).

3. Schweinehypophysenextrakt.

Am Verlauf der Diuresekurve ist bemerkenswert, daß nur eine sehr schwache Diuresehemmung in den ersten 3 Stunden festzustellen war, während nachher eine große Diuresesteigerung mit dem Maximum in der 6. Stunde eintrat. Die Chlorausscheidung war verzehnfacht. Aus dem Verlauf der Kurve läßt sich nachweisen, daß dieser Extrakt besonders reich an chlorausschwemmender Substanz und zugleich diuretisch sehr wirksam ist (Abb. 3C). Die Kontrollkurve nach 2 Wochen zeigt keine Abweichung von der Norm. Es ist also keine Nachwirkung festzustellen.

Über die akute Diuresewirkung des thyreotropen Hormons.

In den ausgeführten Untersuchungen (Methode: Wasserstoß mit Wasser von 2,5% des Körpergewichts, Chlorgehaltbestimmung des

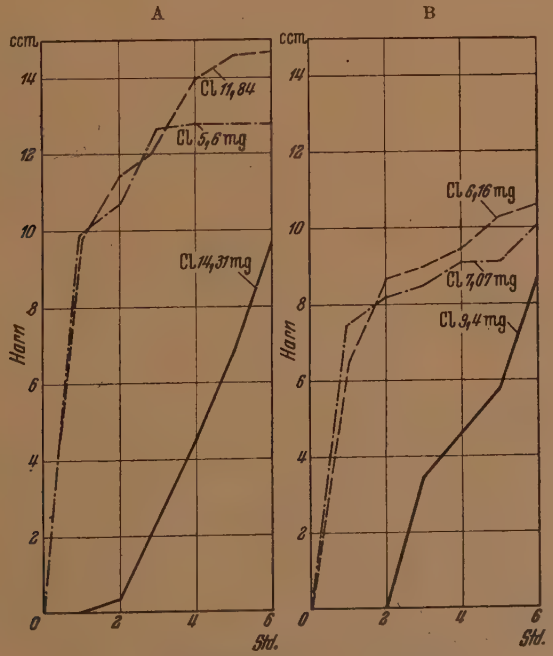


Abb. 4. Durchschnittswerte von 2 Versuchsgruppen.
— — — — Normale Diurese (26. VI. 41).
— · — · — Normale Diurese (14. VII. 41).
A. ———— Pretiron (60 Ms.-E.) (6. VII. 41).
B. ———— Pretiron, gekocht (60 Ms.-E.) (6. VII. 41).

4 Stundenharns) zeigte das thyreotrope Hormon (Pretiron 60 Ms.-Einh. subcutan) sowohl ungekocht als auch gekocht keine Diuresesteigerung im Verlauf von 6 Stunden. Es trat im Gegenteil in den ersten 4 Stunden eine Diuresehemmung auf, die wohl auf den Gehalt an Vasopressin (etwa 10 %) zurückzuführen ist. Es wurde keine Nachwirkung in bezug auf die Diurese 8 Tage nach Verabreichung von Pretiron festgestellt. Die Chlorausschwemmung nach Pretironinjektion war sehr gering (Abb. 4A, B).

HHL.-Wirkung eines weiter gereinigten HVL.-Extraktes.

Im folgenden wurde versucht, einen gereinigten Extrakt aus HVL.-Rindertrockenpulver zu erhalten, der nur die eventuell vorhandenen Hypophysenhinterlappenhormone enthält. Der Gang der Gewinnung war folgender: 2 g VL.-Trockenpulver wurde mit 66 % Alkohol ausgeschüttelt abfiltriert, und das Filtrat im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde mit Butylalkohol extrahiert und nochmals eingedampft. Der jetzt erhaltene Rückstand wurde in physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst (ad 100 ccm), 0,5 ccm wurde jeder Ratte subcutan injiziert (HVL.-Extrakt X).

Abb. 5. Durchschnittswerte von 4 Versuchen: je 4 Ratten.
——— Normale Wasserdiurese.
—·— 150 Mill.-E. Orasthin sc.
— — Behandelter HVL.-Extrakt X.

Man sieht aus dem Verlauf der Versuchskurven, daß eine Diuresehemmung bei diesem Extrakt eintritt, die auf einen Gehalt an antidiuretischem Prinzip des verwendeten Extrakts hinweist (Abb. 5).

Über die Abhängigkeit der HHL.-Wirkung von der Kochsalzzufuhr.

Für die folgenden Versuche wurde die Versuchsanordnung nach Silvette benutzt. Silvette[8] fand, daß nach intraperitonealer Verabreichung einer Kochsalzlösung bis zu 0,8 % (10 ccm Lösung pro 100 g Tier) der subcutan zugeführte HHL.-Extrakt eine Diuresehemmung zeigte, bei Zufuhr von Lösungen bis 1,2 % Kochsalz dagegen eine Diuresesteigerung gegenüber normal. Diese Versuchsanordnung wurde zur Klärung der Frage benutzt, ob die chlorausschwemmende Wirkung des Orasthins abhängig vom Chlorangebot des Körpers ist.

1. Versuche mit Aqua destillata.

Die Werte der Gesamtdiurese der unbehandelten Gruppe zeigen genau dieselbe Größenordnung wie die von Silvette angegebenen. Der Diurese-

[8] Silvette, H.: Amer. J. Physiol. **128**, 747 (1940).

verlauf nach Aqua dest. (10 ccm pro 100 g Ratte intraperitoneal) war folgender: In der ersten Stunde war eine Hemmung vorhanden und von der zweiten Stunde an trat eine bis in die 6. Stunde anhaltende Diurese auf.

Jene Gruppen, welche 1,5 Einh. Tonephin auf 100 g Körpergewicht subcutan verabreicht bekommen haben, zeigen eine 3 Stunden dauernde vollkommene Diuresehemmung. Auch in der Zeit bis zur 6. Stunde war die Hemmung der Diurese vorhanden. Orasthin (1,5 VE. auf 100 g Ratte subcutan) zeigt eine in den ersten 4 Stunden nachweisbare Diuresehemmung, dann erfolgt eine Diuresesteigerung bis zum Normalwert. Ein mit 0,15 Einh. Tonephin ausgeführter Diureseversuch (von der Annahme ausgehend, daß im Orasthin 10% Tonephin vorhanden ist) zeigt

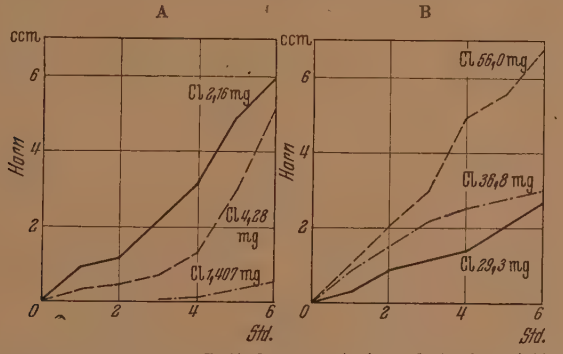


Abb. 6. Durchschnittswerte auf 100 g Ratte bezogen. A. Aqua dest. 10 ccm/100 g Ratte intraperit.
———— Normale Diurese (48 Tiere).
— — — — 1,5 VE. Orasthin sc./100 g Ratte (16 Tiere).
— · — · — 1,5 E. Tonephin sc. (16 Tiere).
B. 1,2% NaCl-Lösung 10 ccm/100 g Ratte i. p.
— — — — Normale Diurese (48 Tiere).
— · — · — 1,5 VE. Orasthin sc. (16 Tiere).
———— 1,5 E. Tonephin sc. (28 Tiere).

einen ähnlichen Diureseverlauf. Nur die Chlorausschwemmung bleibt dabei aus. Unter Orasthin wird doppelt soviel Chlor als normal ausgeschieden (Abb. 6A).

2. Versuche mit 1,2%iger NaCl-Lösung.

Die Tiere erhielten bei diesen Versuchen 10 ccm 1,2%ige NaCl-Lösung pro 100 g Ratte intraperitoneal. 1,5 Einh. Tonephin zeigt eine etwas höhere Diurese als der Kontrollversuch. Die Chlorausschwemmung ist auch höher als normal. Orasthin (1,5 VE. pro 100 g Ratte subcutan) dagegen zeigt eine $^1/_2$fach stärkere Diurese als ohne Orasthin. Die Chlorausschwemmung ist gegenüber dem Normalversuch verdoppelt (Abb. 6B).

Besprechung der Ergebnisse.

Es wurde gezeigt, daß mit HVL.-Extrakten und mit thyreotropem Hormon (Pretiron) keine akute Diurese erzielt werden konnte. Im Gegenteil, die verwendeten HVL.-Extrakte enthalten Antidiuretin aus dem HHL.,

das die Diurese hemmt. Die von Rothschild, Staub und Mezey[8] angegebene diuretische Wirkung des gekochten und ungekochten thyreotropen Hormons konnte mit unserer Versuchsanordnung bei Ratten nicht beobachtet werden. Die von den genannten Autoren festgestellte diuretische Wirkung ist wohl auf die Aktivierung der Schilddrüse zurückzuführen. Da die diuretische Wirkung von HVL.-Extrakten in den von Werner ausgeführten Versuchen erst nach mehreren Tagen auftritt, im Gegensatz zu der mit Orasthin erzielten Diurese, die in der 2. Stunde nach Verabreichung des Präparats zu sehen ist, so ist anzunehmen, daß die Diurese mit HVL.-Extrakten durch Beeinflussung der verschiedenen inkret. Drüsen (chron. Wirkung) zustande kommt. Als für die Diurese verantwortliche Hormone sind dabei das diabetogene, thyreotrope und corticotrope Hormon anzusehen. Die von Rivolt[9] angegebene, stark diuretische Wirkung des Präphysons (HVL.-Präparat) ist wohl auch auf einen Gehalt an antidiuretischer Substanz des HHL. zurückzuführen, da anfangs eine Diuresehemmung bemerkbar war. Die bei den mit HVL.-Extrakten ausgeführten Versuchen auftretende Diuresehemmung (vgl. Abb. 2 in der 2. und 3. Stunde) ist auf einen Gehalt von Antidiuretin zurückzuführen, da sich die antidiuretische Substanz aus HVL.-Extrakten extrahieren ließ. Auch beim thyreotropen Hormon blieb die antidiuretische Wirksamkeit nach dem Kochen desselben erhalten.

Die benutzten HHL.- und Hypophysen-Gesamtextrakte wirken antidiuretisch, nur der Schweinehypophysenextrakt zeigte eine Diuresesteigerung. Bemerkenswert ist, daß die Chlorausschwemmung bei Schweinehypophysenextraktzufuhr besonders groß ist. Wie die Versuchsergebnisse nach der Methode von Silvette zeigen, hängt die diuretische Wirkung mit der chlorausschwemmenden zusammen.

Aus den hohen Werten der Chlorausscheidung bei HHL. und Gesamtextrakten kann man sehen, daß das chlorausschwemmende Prinzip im Hypophysenhinterlappen zu finden ist. Da in den HVL.-Präparaten Vasopressin als Verunreinigung nachzuweisen war, so ist es wahrscheinlich gemacht, daß die chlorausschwemmende und dadurch auch diuresefördernde Substanz des Orasthins aus dem HHL. stammt. Die vorwiegend diuretische bzw. antidiuretische Wirkung des HHL. verschiedener Herkunft ist auf das Überwiegen der einen oder anderen Substanz in den Präparaten zu beziehen. Nur im Schweinehypophysenextrakt überwiegt das chlorausschwemmende diuretische Prinzip, in allen anderen HHL.-Präparaten trotz Chlorausschwemmung das antidiuretische.

Das chlorausschwemmende diuretisch wirksame Prinzip ist auch an einen bestimmten Chlorgehalt des Körpers gebunden, denn die Versuche mit der Methode nach Silvette zeigen besonders deutlich, daß Orasthin bei Zufuhr von Aq. dest. keine diuretische Wirkung hat, daß es aber bei

[9] Rivolt, K. H.: Z. Klin. Med. **137**, 612 (1940).

NaCl-Zufuhr besonders stark chlorausschwemmend wirkt. Im Gegensatz zum Orasthin ist Tonephin (Vasopressin) bei Wasserzufuhr sehr stark antidiuretisch, während es bei hohem NaCl-Gehalt des Körpers, wie auch schon früher mit anderer Versuchsanordnung nachgewiesen wurde, keine Diuresehemmung zeigt. Da eine diuretische Wirkung des Orasthins nur eintritt, wenn Chlor ausgeschwemmt wird, scheint diese Wirkung die primäre zu sein, während das Wasser nur mitgenommen wird.

Zusammenfassung.

Es wurden Versuche ausgeführt, um die Frage zu klären, ob das diuresefördernde chlorausschwemmende Prinzip des Orasthins aus dem HHL. oder HVL. stammt.

1. Es konnte wahrscheinlich gemacht werden, daß die chlorausschwemmende diuretische Substanz des Orasthins aus dem HHL. stammt.

2. Rinder- und besonders Schweinehypophysen sind reich an chlorausschwemmender Substanz. Die diuretische Wirkung war nur bei Verabreichung von Schweinehypophysen zu sehen.

3. Thyreotropes Hormon zeigte keinen diuretischen Effekt im Laufe von 6 Stunden.

4. Alle untersuchten HVL.-Extrakte enthalten Antidiuretin.

5. Es konnte keine akute diuretische Wirkung bei HVL.-Extrakten festgestellt werden.

6. Die Chloridausschwemmung nach Orasthin ist abhängig vom Chloridgehalt des Körpers. Bei hohem Chloridgehalt ist die Orasthinwirkung beträchtlich, bei geringem Chloridgehalt ist Orasthin unwirksam.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Marburg a. d. Lahn.

Pharmakologische Wirkungen des Protamins Clupein.

Von

Fritz Heim.

Mit 3 Textabbildungen (11 Einzelbildern).

(Eingegangen am 21. April 1943.)

Unabhängig von ihrem chemischen Aufbau und ihren spezifischen biologischen Funktionen haben die Eiweißkörper die wichtige physikalisch-chemische Eigenschaft, andere Stoffe zu adsorbieren. Da nicht nur die Körperzellen, sondern auch vor allem das Blut in einem sehr hohen Prozentsatz Eiweißkörper enthalten, sind überall im tierischen Organismus die Voraussetzungen gegeben für die Adsorption nicht nur körpereigener, sondern auch von außen dem Körper zugeführter Stoffe. Es konnte von uns in einer früheren Mitteilung[1] am Beispiel des Vagusüberträgerstoffes Azetylcholin gezeigt werden, daß dieser an den Nervenendigungen des cholinergischen Systems physiologischerweise gebildete chemische Überträgerstoff durch Adsorption an Eiweißkörper eine wesentliche Veränderung seiner Wirkung erfährt. Während wir in unserer früheren Mitteilung[1] die Änderungen der Azetylcholinwirkung durch Adsorption an Serumeiweißkörper untersuchten, wurde in folgender Arbeit ein anderer Eiweißkörper gewählt und zwar ein Protamin, das Clupeinsulfat. Die Protamine kommen in tierischem Gewebe (Fischspermien) und in pflanzlichem Gewebe (Hefezellen) vor. Sie haben unter allen Eiweißkörpern den einfachsten chemischen Aufbau und besitzen ein Molekulargewicht zwischen 2000 und 4000. Sie haben weiterhin die Eigenschaft, mit anderen Eiweißkörpern Salze zu bilden. Um eine protahierte Insulinwirkung zu erzielen, werden heute vielfach statt des reinen Insulins die Insulin-Protaminate verwendet. Daß die Bindung des Insulinmoleküls an andere Eiweißkörper infolge Resorptionsverzögerung zur Wirkungssteigerung führt, hat Bertram[2] erstmalig gezeigt.

Die Untersuchungen wurden wieder am nach Straub isolierten Froschherz durchgeführt. Es sollte dabei erstens festgestellt werden, welche Wirkung das Protamin der als Nährflüssigkeit dienenden Ringerlösung zugesetzt, unmittelbar auf die Tätigkeit des isolierten Herzens ausübt. Zweitens, in welcher Weise das Protamin den Wirkungscharakter des Azetylcholins verändert und schließlich, in welcher Weise die Adsorptionsfähigkeit anderer höhermolekularer Eiweißkörper (Serumalbumin, Eieralbumin) durch das Protamin verändert wird.

[1] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 276 (1939). — [2] Bei Gremels: Erg. Physiol. usw. Bd. 42.

Versuche.

Protaminmengen von 0,5—5 γ dem aus 0,5 ccm Ringerlösung bestehenden Kanüleninhalt zugesetzt, haben keinerlei sichtbare Wirkung auf die Tätigkeit des Herzens. Auch Mengen von 5—15 γ sind an einem ungeschädigten, optimal schlagenden Herzen wirkungslos. An einem geschädigten oder ermüdeten Herzen bewirken 5—15 γ Protamin eine Zunahme der Kammerhubhöhe bis zur Norm. Protaminmengen von 50—100 γ bewirken unter zunehmender Verkürzung der Diastole innerhalb weniger Minuten systolischen Kammerstillstand. Dabei können

Abb. 1.

die Vorhöfe noch lange Zeit regelmäßig weiterschlagen. Diese Kammerkontraktur ist nicht auswaschbar. Man muß deshalb annehmen, daß die Protaminmoleküle eine irreversible Bindung mit den kontraktilen Elementen der Herzmuskelzellen eingegangen sind. Aus Abb. 1 ist zu ersehen, daß 10 γ Protamin an einem, durch häufiges Auswaschen leicht geschädigten Herzen, die Hubhöhe wieder zu normalen Werten zurückzuführen vermögen. Weiterhin zeigt die Abbildung, daß 50 γ bereits innerhalb weniger Minuten zum systolischen Herzkammerstillstand führen, der sich durch Auswaschen nicht beheben ließ. Wie bereits oben erwähnt, sind Protaminmengen von 0,5—15 γ am optimal schlagenden Herz ohne sichtbare Wirkung, trotzdem verändern sie schon in erheblichem Maße die Azetylcholinwirkung auf das Herz. Bei dem in Abb. 2 wiedergegebenen Versuch wurden anfangs 0,025 γ Azetylcholin zugesetzt. Sofort nach der Zugabe des Azetylcholins tritt ein Kammerstillstand von insgesamt 4 Minuten auf, an den sich eine rasche Erholung der Kammertätigkeit anschließt. 29 Minuten nach Zugabe des

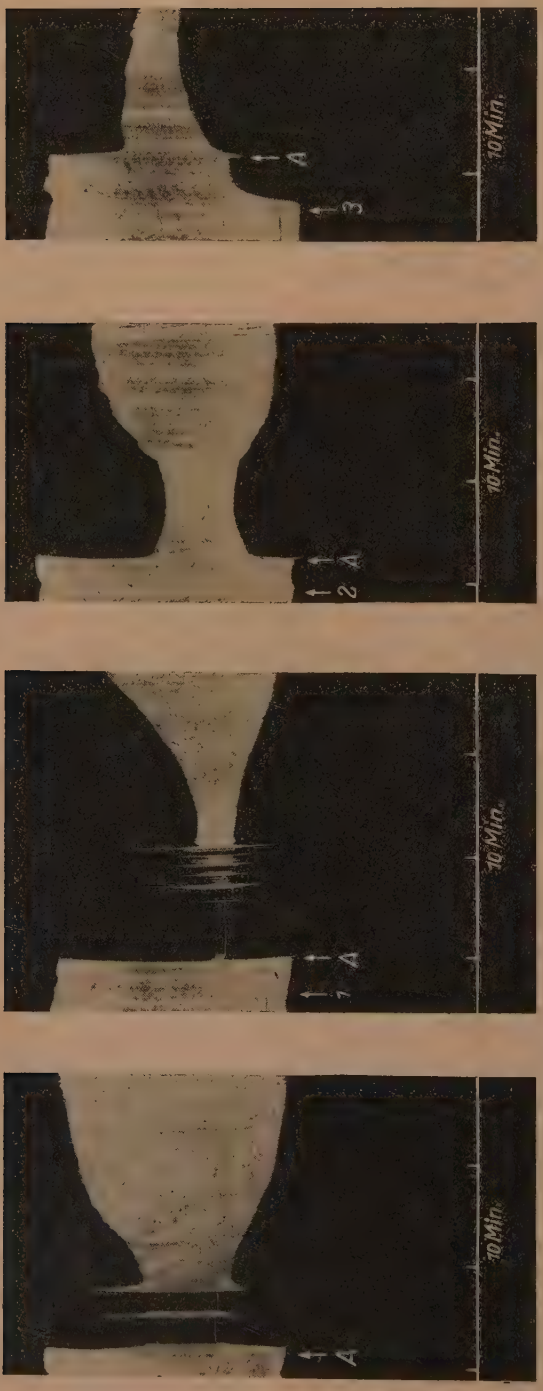


Abb. 2. A = 0,025 γ Acetylcholin; 1 = 2,5 γ Clupeinsulfat, 2 = 12,5 γ Clupeinsulfat, 3 = 25,0 γ Clupeinsulfat.

Azetylcholins ist die normale Hubhöhe wieder erreicht. Setzt man der Nährflüssigkeit 2,5 γ Clupeinsulfat zu, so bleibt es, wie aus der Abbildung hervorgeht, ohne sichtbare Wirkung auf die Kammertätigkeit. Gibt man jetzt wiederum 0,025 γ Azetylcholin zur Nährflüssigkeit, so ist der eintretende Kammerstillstand von längerer Dauer als vorher, und die Erholung der Kammertätigkeit geht wesentlich langsamer vor sich. 29 Minuten nach der Zugabe des Azetylcholins sind erst 75 % der normalen Hubhöhe wieder erreicht. Gibt man schließlich 12,5 γ Clupein zur Nährflüssigkeit und prüft daraufhin die Wirkung von 0,025 γ Azetylcholin, so tritt, wie aus der Abbildung hervorgeht, ein Kammerstillstand überhaupt nicht ein. Es kommt lediglich zu einer Abnahme der Hubhöhe, die nach 5 Minuten ihren höchsten Grad erreicht hat und 26 % der Normalhubhöhe beträgt. Nach Zugabe von 25 γ Clupein tritt bereits eine Verkürzung der Diastole der Kammer auf, während die systolische

Höhe der Kammerkontraktion unverändert bleibt. Auf 0,025 γ Azetylcholin reagiert die Kammer wiederum nur mit einer Abnahme der Hubhöhe, eine Erholung der Kammertätigkeit tritt innerhalb 30 Minuten nicht ein.

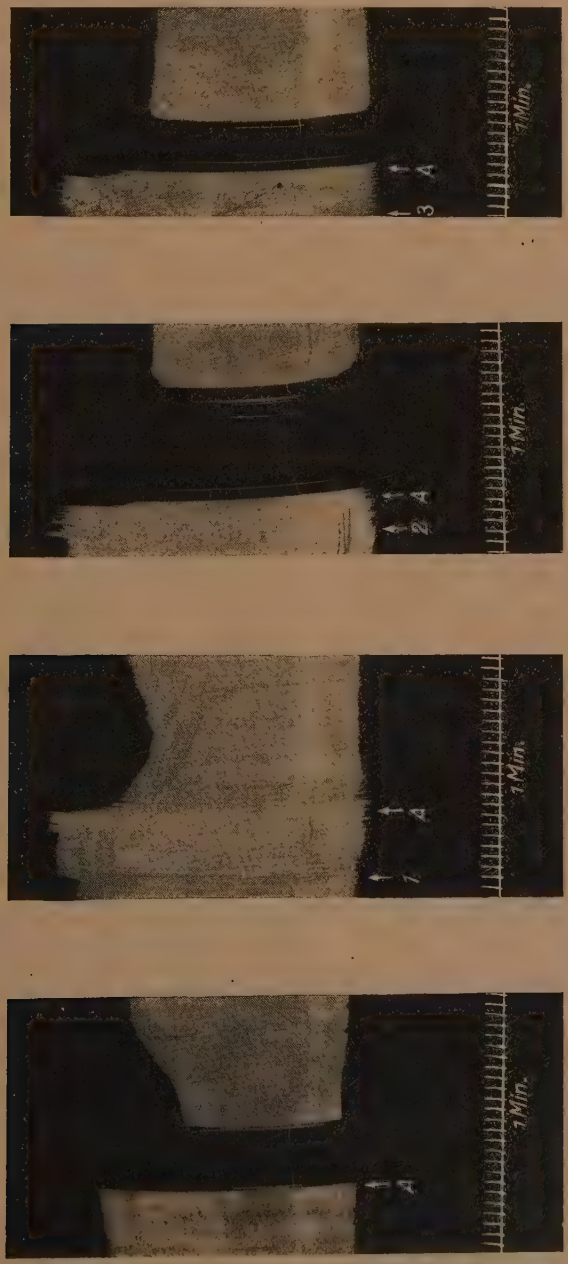


Abb. 3. A = 0,025 γ Acetylcholin; 1 = 1 mg Serumalbumin, 2 = 1 mg Serumalbumin + 0,0125 mg Clupeinsulfat, 3 = 2 mg Serumalbumin + 0,0125 mg Clupeinsulfat.

In Abb. 3 wird ein Versuch wiedergegeben, bei dem zu Beginn in der üblichen Weise 0,025 γ Azetylcholin dem Kanüleninhalt zugesetzt wurden. Es kommt, wie aus der Abbildung zu ersehen ist, nach der Zugabe des Azetylcholins zu einem $5^1/_2$ Minuten dauernden Kammerstillstand, nach dessen Beendigung sich das Herz unter Zunahme der Kammerhubhöhen langsam erholt. Im weiteren Verlauf des Versuchs wurde dem Kanüleninhalt 1 mg gelöstes Serumalbumin zugesetzt. Wie zu ersehen ist, nimmt daraufhin die Hubhöhe der Kammer etwas zu. Gibt man nun in Gegenwart von 1 mg Serumalbumin wieder 0,025 γ Azetylcholin, so beobachtet man lediglich eine geringe Abnahme der Hubhöhe, die im Augenblick der Zugabe des Azetylcholins sehr gering ist und erst nach 8 Minuten ihren stärksten Grad erreicht. Setzt man im weiteren Verlauf des Versuchs dem aus 0,5 ccm Ringerlösung und 1 mg Serumalbumin bestehenden Kanüleninhalt noch 12,5 γ Clupein zu, und prüft man einige Minuten später wiederum 0,025 γ Azetylcholin hinsichtlich ihrer Wirkung auf das Herz, so beobachtet man nunmehr, daß trotz der Anwesenheit des Serumalbumins das Azetylcholin einen langdauernden Kammerstillstand hervorruft. Seine Dauer beträgt 11 Minuten. Setzt man im weiteren Verlauf des Versuchs dem Kanüleninhalt die doppelte Menge, also 2 mg Serumalbumin zu, und wieder die gleiche Menge Clupein, nämlich 12,5 γ, so beobachtet man nach Zugabe von 0,025 γ Azetylcholin wieder einen Kammerstillstand aber nur von 5 Minuten Dauer. Steigert man bei gleichbleibender Clupeinmenge die Serumalbuminmenge weiter, so bleibt schließlich der Kammerstillstand aus, und es kommt nach Zugabe des Azetylcholins lediglich zu einer Abnahme der Hubhöhe.

Besprechung.

Wir haben in Abb. 1 gesehen, daß kleine Mengen Clupein die Kontraktilität der Herzkammer zu verbessern vermögen. Das gleiche erreicht man bekanntlich durch Zusatz kleiner Serummengen zur Ringerlösung, oder, wie wir zeigen konnten[1], durch Zugabe anderer höhermolekularer Eiweißkörper. Die einfachste Erklärung für diesen Befund ist wohl die, daß das Clupein ebenso wie andere Proteine infolge seiner kolloidosmotischen Wirksamkeit der Muskelfaser wieder Wasser entzieht und so die bei längerer Anwendung der kolloidfreien Ringerlösung stets auftretende schädigende Verquellung der Muskelfasern behebt. Schließlich ist noch daran zu denken, daß das Clupein ebenso wie andere dem Kanüleninhalt zugesetzte Kolloide im Muskel selbst entstandene negativ inotrop wirkende Substanzen an ihre Oberflächen adsorbieren und sie somit der Einwirkung auf den Herzmuskel entziehen. Daß diese leistungssteigernde Wirkung schon mit wenigen Gammata Clupeinsulfat zu erreichen ist, hängt mit dem niedrigen Molekulargewicht dieses Eiweißkörpers zusammen, das, wie erwähnt, nur 2000 bis 4000 beträgt. Eine gleiche Menge Clupeinsulfat muß also kolloidosmotisch oder adsorptiv etwa 20 mal so wirksam sein wie eine gleiche Menge Serumalbumin. Der Befund, daß bereits 50 γ Clupein die Kammer des isolierten Froschherzens innerhalb weniger Minuten in systolischen Stillstand versetzen

erklärt sich aus der bereits einleitend mitgeteilten Tatsache, daß Protamine mit höhermolekularen Eiweißkörpern Verbindungen einzugehen vermögen, die mit Änderungen in der Hydratation, Löslichkeit und Dispersität der betreffenden Eiweißkörper einhergehen. Durch Aufstellung einer Trübungsreihe konnten wir feststellen, daß eine klare 0,1 %ige Serumalbumin-Ringerlösung bzw. eine 0,1 %ige Eieralbumin-Ringerlösung sich nach Zugabe von 0,002 % Clupeinsulfat schon trübt. Der Grad der Trübung nimmt zu, wenn man die Clupeinsulfatkonzentration weiter erhöht. Bei Zugabe von Clupeinsulfat unter 0,002 % bleibt die Protein-Ringerlösung klar, jedenfalls tritt eine mit bloßem Auge wahrnehmbare Trübung nicht auf. Die Trübung der Eiweißlösung kommt dadurch zustande, daß durch die Verbindung mit dem Protamin die Eiweißmoleküle eine Abnahme ihrer Löslichkeit und Dispersität erfahren und sich infolgedessen zusammenballen. Es muß deshalb daran gedacht werden, daß die Protaminmoleküle mit den Muskelproteinen ebenfalls eine Verbindung eingehen und dabei deren Quellungszustand, Löslichkeit und Dispersität vermindern. Es ist anzunehmen, daß damit der Muskelfaser die Fähigkeit verloren geht zu erschlaffen, und sie sich infolge der Entquellung und Löslichkeitsverminderung ihrer kontraktilen Elemente mehr und mehr dem Zustand maximaler Kontraktion nähert. Es sei noch erwähnt, daß in Gegenwart anderer höhermolekularer Eiweißkörper in der Nährflüssigkeit die zur Erreichung eines Kammerstillstandes notwendige Clupeinmenge wesentlich größer sein mußte als dann, wenn das Clupein eiweißfreier Ringerlösung zugesetzt wurde. So beträgt bei Anwesenheit von 1 mg Serumalbumin im Kanüleninhalt die zur Erreichung eines raschen systolischen Kammerstillstandes notwendige Clupeinmenge 100 γ. Das ist durchaus verständlich, da ein Teil des zugesetzten Clupeins durch die mit dem Serumalbumin eingegangene Bindung im Kanüleninhalt zurückgehalten wird und somit nicht in Reaktion mit den Muskelproteinen treten kann.

In Abb. 2 haben wir gezeigt, daß schon der Zusatz kleinster Protaminmengen zur Nährflüssigkeit des Herzens dessen Ansprechbarkeit gegenüber Azetylcholinreizen erhöht, ohne dabei selbst den Kontraktionsablauf der Kammer zu beeinflussen. Clupeinsulfat in einer Konzentration von 1 : 500000 erhöht schon die Wirksamkeit von Azetylcholin am isolierten Froschherz. Die Erklärung für diese Beobachtung ist folgende: Setzt man eine größere Azetylcholinmenge der aus eiweißfreier Ringerlösung bestehenden Kanülenflüssigkeit zu, so diffundiert das Azetylcholin entsprechend seinem Konzentrationsgefälle in das Gewebe, wo es durch die dort vorhandene Cholinesterase gespalten und damit physiologisch unwirksam gemacht wird. Unter einer größeren Azetylcholinmenge verstehen wir Mengen, die einen mehrere Minuten dauernden Kammerstillstand hervorzurufen vermögen. Da bei Zugabe größerer Azetylcholinmengen in der Zeiteinheit mehr Azetylcholin in das Gewebe diffundiert und dort zerstört wird, als zur Erzielung einer maximalen negativ inotropen Wirkung notwendig ist, so wird dauernd eine bestimmte physiologisch unwirksam

gebliebene Azetylcholinmenge in den Zellen zerstört. Wird aber in Gegenwart von Clupein ein Teil des zugesetzten Azetylcholins an den Eiweißkörper adsorbiert, so ist selbstverständlich die Konzentration der freien diffusiblen Azetylcholinmoleküle in der Kanülenflüssigkeit niedriger, aber zur Erzielung und Aufrechterhaltung eines Kammerstillstandes noch ausreichend. Infolge des niedrigeren Diffusionsgefälles ist auch die in der Zeiteinheit in die Zellen eindringende und dort durch die Cholinesterase zerstörte Azetylcholinmenge geringer. Da aber dauernd Azetylcholinmoleküle aus ihrer Adsorptionsbindung frei werden, kann über eine längere Zeit hin ein wirksames Azetylcholinkonzentrationsgefälle unterhalten werden und damit durch gleiche Azetylcholinmengen eine länger dauernde Wirkung erzielt werden. Größere Protaminmenge (12,5 γ) setzen, wie wir sahen, die Wirkungsintensität des Azetylcholins herab. In diesem Falle wird ein wesentlicher Teil des zugesetzten Azetylcholins an die Protaminmoleküle adsorbiert und die Konzentration der restlichen, freien Azetylcholinmoleküle reicht nicht aus, einen Kammerstillstand zu bewirken. Sie setzt nur die Kontraktilität der Kammer um 75 % herab. In Gegenwart von 25 γ Protamin kommt es nach Zugabe von 0,025 γ Azetylcholin wiederum nur zu einer Abnahme der Kontraktilität der Kammer. Doch bleibt diesmal die Erholung der Kammerkontraktilität aus. Wir beobachten also eine verminderte, aber ausgesprochen protrahierte Azetylcholinwirkung. Die in der Zeiteinheit in die Zellen einströmende Azetylcholinmenge reicht gerade aus, um eine Abnahme der Kammerkontraktilität zu bewirken. Die in der Zeiteinheit in den Zellen zerstörte Azetylcholinmenge ist daher auch äußerst gering. Durch langsame Freigabe, der in großer Zahl an das Protamin adsorbierten Azetylcholinmoleküle, kann deshalb über lange Zeit hin ein ausreichendes Azetylcholinkonzentrationsgefälle in der Richtung zu den Zellen hin unterhalten werden. Die Fähigkeit größerer Protaminmengen, die Wirkungsintensität von Azetylcholin abzuschwächen und die Wirkungsdauer zu erhöhen, besitzen, wie wir bereits früher nachgewiesen haben[1], auch die Serumeiweißkörper und das Serum selbst. In Abb. 3 z. B. ist zu sehen, daß in Gegenwart von 1 mg Serumalbumin in der Kanülenflüssigkeit die Wirkungsintensität von 0,025 γ Azetylcholin wesentlich herabgesetzt ist. Durch vergleichende Versuche ließ sich feststellen, daß die adsorptive Fähigkeit von 12,5 γ Clupeinsulfat etwa der von 500—750 γ Serumalbumin entspricht. In dem in Abb. 3 wiedergegebenen Versuch beobachteten wir, daß in Gegenwart von 1 mg Serumalbumin die Wirkungsintensität von 0,025 γ Azetylcholin stark herabgesetzt war. Die Zugabe von 12,5 γ Clupeinsulfat zur Serumalbumin-Ringerlösung hob die Adsorptionswirkung des Serumalbumins scheinbar vollkommen auf. Dieser Befund ist folgendermaßen zu erklären: das Protamin geht mit dem Serumalbumin eine Verbindung ein, durch die dieser Eiweißkörper eine starke Abnahme seiner Löslichkeit und seines Dispersitätsgrades erfährt. Die Eiweißmoleküle ballen sich in großer Zahl zusammen und verringern dadurch in starkem Maße ihre adsorptive Ober-

fläche. Dieser Vorgang läßt sich schon rein äußerlich an der eintretenden Opaleszenz der Protamin-Serumalbumin-Ringerlösung erkennen. Von dem zugesetzten Azetylcholin kann jetzt ein wesentlich geringerer Teil an die Eiweißoberflächen adsorbiert werden. Im Prinzip wirkt das Serumalbumin-Protaminat wie in Abb. 2 die Zugabe einer kleinen Menge Protamin. Es verstärkt die Azetylcholinwirkung am Herzen. Denn an Stelle einer großen Zahl einzelner Albuminmoleküle enthält die Ringerlösung eine geringe Zahl riesenhafter Molekularkomplexe. Wie aus der Abb. 3 zu ersehen ist, nimmt der wirkungsverstärkende Einfluß des Serumalbumin-Protaminats ab, wenn man das Mengenverhältnis Protamin zu Serumalbumin zugunsten des Serumalbumins verändert. In diesem Falle wird neben dem an Protamin gebundenen und zu großen Molekularkomplexen zusammengeballten Albumin-Protaminmolekülen eine größere Zahl freier Serumalbuminmoleküle in der Lösung vorhanden sein, die über eine unveränderte Dispersität, Löslichkeit und Adsorptionsfähigkeit verfügen.

An Hand der mitgeteilten Versuche konnte festgestellt werden, daß Clupeinsulfat die gleichen physikalisch-chemischen Eigenschaften besitzt wie andere höhermolekulare Eiweißkörper. Doch ist es infolge seines niedrigen Molekulargewichts in wesentlich kleineren Mengen gleich wirksam. Hinsichtlich seiner kolloid-osmotischen und adsorptiven Wirkungsweise ist das Protamin rund 20—40mal wirksamer als Serumalbumin. Kleine Protaminmengen besitzen die Fähigkeit, ein hypodynames Herz wieder zur normalen Tätigkeit zurückzuführen. Größere Mengen (50—100 γ) bewirken am isolierten Froschherz rasch eintretenden systolischen Kammerstillstand. Kleinste Mengen von Clupeinsulfat (0,5—5 γ) verstärken die Azetylcholinwirkung auf das Froschherz, größere Mengen setzen sie herab unter gleichzeitiger Verlängerung der Wirkungsdauer. Mit höhermolekularen Eiweißkörpern geht das Clupeinsulfat eine Bindung ein, durch die diese Eiweißkörper eine Abnahme ihres Löslichkeits- und Dispersitätsgrades erfahren. Damit einher geht eine starke Abnahme ihres Adsorptionsvermögens. In welcher Weise die Spaltprodukte der Eiweißkörper, nämlich die Aminosäuren, das Adsorptionsvermögen der Eiweißkörper zu beeinflussen vermögen, soll in einer späteren Arbeit mitgeteilt werden.

Zusammenfassung.

Das Protamin, Clupeinsulfat, besitzt schon in niedrigsten Konzentrationen die gleichen kolloid-osmotischen und adsorptiven Eigenschaften wie andere höhermolekulare Eiweißkörper. Bis zu 20 γ Clupeinsulfat verstärken die Kammertätigkeit des hypodynamen Froschherzens. Über 50 γ Clupeinsulfat bewirken systolischen Kammerstillstand. 0,5—5 γ Clupeinsulfat verstärken die Azetylcholinwirkung, größere Mengen setzen sie herab, erhöhen aber unter Umständen die Wirkungsdauer. Das Clupeinsulfat geht mit einigen höhermolekularen Eiweißkörpern Verbindungen ein, durch die diese Eiweißkörper eine Änderung in ihrer Löslichkeit, Dispersität und Adsorptionsfähigkeit erfahren.

Die Wirkung der Jodessigsäure, der Essigsäure und des Jods auf den Gewebsstoffwechsel*).

Von

Hermann Druckrey und Wolfgang Loch.

Mit 5 Textabbildungen (7 Einzelbildern).

(Eingegangen am 19. April 1943.)

Wird Speicheldrüsengewebe (bei der Untersuchung mit der Methode von Warburg) z. B. durch Zusatz von Azetylcholin gereizt, so tritt im „Erregungsstoffwechsel" neben einer beträchtlichen Steigerung der Atmung stets eine kräftige Bildung „fixer Säuren" („aerobe Glykolyse") auf. Da diese Säurebildung im „Ruhestoffwechsel" nicht zu beobachten ist, glauben wir in ihr ein besonderes Merkmal des „Erregungsstoffwechsels" sehen zu müssen[1].

Bekanntlich bildet der arbeitende Muskel Milchsäure. Nun hat Lundsgaard[2] gezeigt, daß der Muskel sich auch dann noch kontrahieren kann, wenn die Milchsäurebildung durch Jodessigsäure vollkommen vergiftet ist. Diese Beobachtung hat für die Vorstellungen über die chemischen Vorgänge im Muskel weitgehende Konsequenzen gehabt.

Es war nun die Frage, ob die Säurebildung auch am Speicheldrüsengewebe für den Erregungsstoffwechsel so unwesentlich ist wie am Muskel, oder ob sie hier für diesen eine notwendige Voraussetzung darstellt. Ein erster Hinweis zu diesem Problem ergab sich bei Versuchen, in denen wir dem Gewebe Milchsäure als Substrat anboten. Unter diesen Umständen trat nämlich zwar eine sehr starke Atmungssteigerung im Erregungsstoffwechsel auf, aber die sonst so charakteristische Säurebildung blieb vollkommen aus[3]. So hatte es den Anschein, als ob die Säurebildung auch bei der Speicheldrüse für die Erregung ganz unwesentlich und nur eine Nebenerscheinung sei. Wenn wir trotzdem davon absahen, diese Beobachtung als Argument für die Gültigkeit der Lundsgaardschen Vorstellung auch für dies Gewebe herauszustellen, so deshalb, weil hier die Hemmung der Säurebildung gerade durch jene Substanz selbst herbeigeführt war, die sonst als wichtiges Endprodukt der Säurebildung gilt, nämlich die Milchsäure. Es war also an die Möglichkeit zu denken, daß der starke Erregungsstoffwechsel hier trotz fehlender Säurebildung einfach aus dem Grunde dennoch möglich war, weil die Milchsäure, deren Bildung

* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

[1] Brock, N., H. Druckrey u. H. Herken: Biochem. Z. **300**, 1 (1938); Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 687 (1939). — [2] Lundsgaard, E.: Biochem. Z. **217**, 162 (1930); **220**, 1, 8 (1930); **227**, 51 (1930). — [3] Brock, N., H. Druckrey u. W. Loch: Ebenda **300**, 313 (1942).

unterblieb, gleichzeitig substituiert wurde. Deshalb haben wir nunmehr auch Versuche durchgeführt, in denen die Säurebildung mit Jodessigsäure vergiftet wurde.

1. Versuche mit Jodessigsäure.

Die methodische Anordnung geht aus unseren früheren Mitteilungen zur Genüge hervor[1]. Die manometrische Untersuchung des Gewebsstoffwechsels erfolgte nach Warburg[4] in der bei uns gebräuchlichen Form[1]. Die Jodessigsäure wurde aus einer Anhangsbirne während des Versuchs dem Ansatz zugegeben, ebenso das Azetylcholin, mit dem die Auslösbarkeit des „Erregungsstoffwechsels" untersucht wurde. Die Zahlen geben stets die Endkonzentrationen an. Die Speicheldrüsen (glandulae submaxillares) stammten von Katzen, die durch Genickschuß getötet wurden. Die Untersuchung erfolgte in Ringerlösung.

Zunächst untersuchten wir die Wirkung jener Konzentrationen Jodessigsäure, die am Muskel für eine volle Hemmung der Milchsäurebildung nach den Angaben der Literatur[2] erforderlich sind, nämlich die von 10^{-3} bis 10^{-4}. Allein diese führten bis herab zur Konzentration von 10^{-4} einschließlich in kurzer Zeit den Tod des Gewebes herbei, vergifteten also auch die Atmung des ruhenden Gewebes (Abb. 1a).

Kleinere Konzentrationen Jodessigsäure bis höchstens 10^{-5} ließen

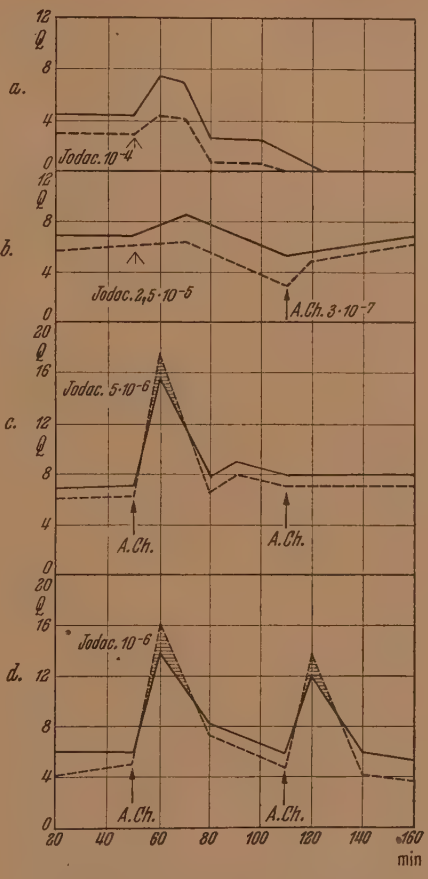


Abb. 1. Die Wirkung verschiedener Konzentrationen von Jodessigsäure auf den Stoffwechselablauf von Speicheldrüsenschnitten im Ruhezustand und nach Reizung durch Azetylcholin. Tyrodelösung mit Glucose (200 mg%).

a) Nach 10^{-4}: Stoffwechselabfall und Gewebstod.
b) Nach $2{,}5 \cdot 10^{-5}$: Volle Hemmung des Erregungsstoffwechsels ohne Beeinträchtigung des Ruhestoffwechsels.
c) Nach $5 \cdot 10^{-6}$ (Vorbehandlung): Hemmung der Erholung nach vorangegangenem, ungestört verlaufenem Erregungsstoffwechsel.
d) 10^{-6}: Grenzdosis.

Erklärung: Beim Keil Zusatz von Jodacetat, beim Pfeil Zusatz von Azetylcholin $3 \cdot 10^{-7}$. Durchgezogene Linie: O_2-Verbrauch in cmm/h/mg = Q. Gestrichelte Linie: Gesamt-CO_2-Bildung. Schraffiertes Feld: Extrakohlensäure = Säurebildung (aerobe Glykolyse).

[4] Warburg, O.: Der Stoffwechsel der Tumoren. Berlin 1926; Warburg, O., Kubowitz u. Christian: Biochem. Z. 242, 170 (1931).

den oxydativen „Ruhestoffwechsel" des Gewebes völlig unbeeinträchtigt. Trotzdem reagierte das Gewebe aber nicht mehr auf Azetylcholin (Abb. 1b). Wir haben uns dann in zahlreichen Versuchen bemüht, eine Jodessigsäure-Konzentration zu finden, die im „Erregungsstoffwechsel" die Säurebildung gerade vollständig vergiftet, die Stoffwechselsteigerung dagegen unbeeinträchtigt läßt. Diese Versuche blieben aber völlig erfolglos. Die Dosen, die die Säurebildung verhinderten, machten auch zugleich den gesamten Erregungsstoffwechsel unmöglich. Kleinere Konzentrationen ließen dann wieder beides zu (Abb. 1c und d). Am Speicheldrüsengewebe ist es danach nicht möglich, die Reaktionsfähigkeit unabhängig von der Säurebildung zu erhalten.

Die am Muskel gewonnenen Erfahrungen lassen sich also nicht ohne weiteres auf das Speicheldrüsengewebe übertragen. Wir haben nach der Ursache für diese Verschiedenheit gesucht. Ein wesentlicher Unterschied zwischen beiden Gewebsarten, der uns schon mehrfach beschäftigt hat[3], ist der, daß die zelleigenen Reserven jenes Substrats, das für den Arbeitsstoffwechsel erforderlich ist, im Falle des Speicheldrüsengewebes sehr klein sind, so klein, daß sie schon nach einem Erregungsvorgang im allgemeinen erschöpft sind, im Fall des Muskelgewebes sind sie dagegen sehr groß. Speicheldrüsengewebe ist daher zu einem ständigen Neuaufbau dieses Substrats gezwungen (den es aus Milchsäure im übrigen gut vornehmen kann[3]), während der Muskel eine Zeitlang ohne Synthesen arbeiten kann.

Nun hat schon Lundsgaard festgestellt, daß die Kontraktionen des mit Jodessigsäure vergifteten Muskels sich doch beträchtlich von denen des normalen unterscheiden und auch weit weniger oft ausgelöst werden können. Vor allem verläuft die Erschlaffung recht träge. Schließlich tritt Starre ein, wie zuerst Pohl[5] fand.

Wir haben nach solchen Überlegungen untersucht, ob die Jodessigsäure eine besondere Wirkung auf die Synthesen hat. In früheren Versuchen[3] hatten wir festgestellt, daß die zelleigenen Substratreserven des Speicheldrüsengewebes so klein sind, daß es nach einer vorangegangenen Erregung nur dann wieder reaktionsfähig wird, wenn ihm von außen ein geeignetes Substrat angeboten wird. Es müssen also in der Erholungsphase Synthesen stattfinden. Andererseits wissen wir, daß die Substratreserven des Gewebes für einen einmaligen Erregungsstoffwechsel sicher voll ausreichen.

Wenn nun die Synthesen, auf die das Speicheldrüsengewebe zum Unterschied vom Muskel so bald angewiesen ist, tatsächlich empfindlicher gegenüber Jodessigsäure sind, als der Substratabbau beim Erregungsstoffwechsel, so müßte es eine Jodessigsäure-Konzentration geben, die wohl den Erregungsstoffwechsel, also den Abbau praktisch ungestört zuläßt, aber die nach diesem erforderliche Erholung mit ihren Synthesen

[5] Pohl, J.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. 24, 142 (1888).

unmöglich macht oder deutlich hemmt, so daß ein 2. oder 3. Reiz durch Azetylcholin dann unbeantwortet bleiben müßte.

Das ließ sich im Experiment klar erweisen (Abb. 1c). Nach Vorbehandlung mit einer Jodessigsäurekonzentration von $5 \cdot 10^{-6}$ — und die ist um fast zwei Größenordnungen schwächer als die bei Muskelversuchen gebräuchliche — hatte Azetylcholin zunächst auf das Speicheldrüsengewebe praktisch seine volle und charakteristische Wirkung. Es trat nicht nur eine Atmungssteigerung von mehr als 100% auf, sondern auch die bekannte Säurebildung. Ein zweiter Reiz blieb dagegen ganz ohne Wirkung, d. h. es ist nach der ersten Reaktion keine Erholung eingetreten. Hier ist also die zweite Azetylcholinwirkung völlig aufgehoben, obwohl die bei der Vorbehandlung angewendete Jodessigsäurekonzentration bei der ersten Reizung sogar die Säurebildung noch zugelassen hatte. Auch aus diesem Versuch geht also doch wieder die Untrennbarkeit von Säurebildung und Erregungsstoffwechsel hervor. Das gleiche Ergebnis hatten dann auch weitere Versuche, in denen die „Glykolyse" mit Oxalat vergiftet wurde. Auch da war es so, daß jene Konzentrationen, die die Säurebildung vollkommen verhinderten, auch den ganzen Erregungsstoffwechsel, d. h. auch die Atmungssteigerung unmöglich machten. Daß auch Fluorid hier nicht nur die Säurebildung, sondern gleichzeitig stets auch den gesamten Erregungsstoffwechsel aufhebt, haben schon Deutsch und Raper[6] mitgeteilt.

Nach diesen Ergebnissen müssen wir annehmen, daß die Säurebildung im „Erregungsstoffwechsel" des Speicheldrüsengewebes — zum Unterschied von den Verhältnissen am Muskel — einen wesentlichen Stoffwechselprozeß darstellt, dessen Störung auch zu ernsten Störungen der Leistung führt.

2. Diskussion.

Wir sehen also, daß die Jodessigsäurewirkung keineswegs so einfacher Natur ist, wie es zunächst vielleicht den Anschein hatte. Vielmehr zeigte uns das eingehende Studium ihrer Wirkung auf den Stoffwechsel der Speicheldrüse, den wir in einigen Punkten gut übersehen, daß die Jodessigsäure auf recht verschiedenartige Stoffwechselprozesse einwirkt, und zwar dies in Abhängigkeit von ihrer Konzentration.

Unterstellen wir die derzeit vorherrschende Meinung[7]), nach der die Wirkung der Jodessigsäure darauf beruht, daß sie alle Oxydoreduktionen aufhebt, an denen das Cozymase-System beteiligt ist, so daß der Kohlehydratabbau schon auf der Stufe des Glycerinaldehyds stehenbleibt, so müßte man annehmen, daß die Jodessigsäure gemäß der grundsätzlichen Bedeutung dieser Oxydoreduktionen auf alle Gewebe etwa gleich stark wirkt. Nun haben wir aber gezeigt, daß jene Jodessigsäurekonzentration, die am Muskel sogar die Arbeitsleistung noch zuläßt, beim Speicheldrüsen-

[6] Deutsch, W., u. H. S. Raper: J. Physiol. (Brit.) 92, 439 (1938). —
[7] Vgl. Parnas in Nord u. Weidenhagen: Handb. Enzymologie, Bd. II.

gewebe nicht nur die Reaktionsfähigkeit vollkommen aufhebt, sondern in kurzer Zeit den gesamten Stoffwechsel zum Erlöschen bringt und den Tod des Gewebes herbeiführt.

Eine geringere Jodessigsäurekonzentration hatte dann die bemerkenswerte Wirkung, die Atmung des „ruhenden" Gewebes in keiner Weise zu beeinflussen, trotzdem aber den Erregungsstoffwechsel vollständig zu verhindern.

Die Wirkung eines Pharmakons, das an lebenden Zellen eine Stoffwechseländerung herbeiführt oder den Eintritt einer solchen verhindert, kann seinen Angriffspunkt entweder im eigentlichen lebenden Geschehen haben, also als „Reiz" oder „Lähmung" zu betrachten sein, wie z. B. die Wirkung des Azetylcholins oder Atropins am Speicheldrüsengewebe, oder sie kann an Fermentsystemen angreifen und damit dann mittelbar auch die Reaktionsfähigkeit der Zelle beeinflussen, wie z. B. Blausäure. Die erstgenannte Gruppe wirkt demgemäß nur auf belebte Systeme, die letztgenannte dagegen auch und oft in gleicher Stärke auf chemische Reaktionen in vitro.

Die Jodessigsäure gehört nach allem, was wir über ihre Wirkung wissen, eindeutig zu den Fermentgiften. Ihre bisher bekannten biologischen Effekte ließen sich wenigstens sämtlich befriedigend als Fermentbeeinflussungen erklären. Wenn wir nun in den beschriebenen Versuchen sehen, daß eine bestimmte Jodessigsäurekonzentration die Atmung der Speicheldrüse vollkommen vergiftet, die des Muskelgewebes dagegen noch erlaubt, so müssen wir daraus folgern, daß die Oxydationen dieser beiden Gewebe nicht ohne weiteres gleichgesetzt werden können. Noch interessanter erscheint die Beobachtung, daß eine andere Konzentration Jodessigsäure die Ruheatmung des Speicheldrüsengewebes überhaupt nicht beeinflußte, während sie demgegenüber die im „Erregungsstoffwechsel" zu erwartende Atmungssteigerung vollkommen unterdrückte. Daraus müssen wir folgern, wofür wir übrigens an anderer Stelle[3] schon andere Argumente beigebracht haben, daß die starke Atmung im „Erregungsstoffwechsel" der Speicheldrüse nicht eine bloße Steigerung derselben Oxydationen darstellt, die wir im „Ruhestoffwechsel" haben, sondern daß hier qualitative Verschiedenheiten bestehen. Es wäre zu prüfen, ob auch Unterschiede in der Empfindlichkeit beider Atmungstypen gegen Blausäure bestehen.

Am empfindlichsten gegenüber Jodessigsäure erwiesen sich die im Erholungsvorgang stattfindenden Stoffwechselprozesse. Die geringe Jodessigsäurekonzentration von $5 \cdot 10^{-6}$, die sogar den „Erregungsstoffwechsel" an sich praktisch vollkommen zuließ, einschließlich der dabei stattfindenden säurebildenden Prozesse, machte die anschließende Erholung so vollkommen unmöglich, daß ein erneuter Reiz nicht einmal andeutungsweise beantwortet wurde. Dieser Befund steht übrigens im Einklang mit früheren Ergebnissen von Fischer[8], der bei monojodessigsäurevergifteten Muskeln

[8] Fischer, E.: Pflügers Arch. 226, 500 (1931).

die initiale Wärmebildung nicht gestört, sondern vornehmlich die oxydative Erholungsphase beeinträchtigt fand. — Nimmt man für die Wirkung der Jodessigsäure den Angriffspunkt in Fermentsystemen an, so wäre zu folgern, daß im Erholungsstoffwechsel Fermente anderer Art von besonderer Empfindlichkeit gegenüber Jodessigsäure eine Rolle spielen.

Mag nun diese oder eine andere Erklärung zutreffen, auf jeden Fall ergeben unsere Versuche an der Speicheldrüse, daß der Erholungsvorgang am empfindlichsten von der Jodessigsäure geschädigt wird. Wenden wir diese Beobachtung auf die am jodessigsäurevergifteten Muskel erhobenen Befunde an, so könnte man die Möglichkeit, hier noch eine beschränkte Anzahl von Kontraktionen auslösen zu können, dadurch erklären, daß der Muskel über große Substratreserven verfügt und demgemäß in der Lage ist, bis zu ihrer Erschöpfung auch ohne zwischendurch eintretende Erholung und eingeschaltete Synthesen noch mehrfach zu reagieren, sofern nicht die Anhäufung von Stoffwechselprodukten dem im Wege steht. Dabei könnten ihm diese Substratreserven möglicherweise sogar erlauben, die Kontraktionen bei Blockierung der normalen energieliefernden Reaktionen durch andere vikariierend eintretende Reaktionen „zweiter Ordnung" zu „finanzieren", und zwar selbst dann, wenn diese „unwirtschaftlicher" verlaufen sollten. Damit soll keinesfalls die so ausgezeichnet gestützte Bedeutung der Kreatinphosphorsäurespaltung für die Muskelkontraktion in Zweifel gezogen werden, sondern lediglich darauf hingewiesen sein, daß die Milchsäurebildung hier vielleicht nur deshalb bedeutungsloser erscheint, als sie ist, weil große Substratreserven vorhanden sind. Das Speicheldrüsengewebe besitzt demgegenüber, wie wir wissen[3], nur so geringe Substratreserven, daß es schon nach einer einmaligen physiologischen Reaktion Synthesen aus angebotenem Substrat vornehmen muß, um ein zweites Mal reagieren zu können. Demgemäß ist bei ihm eine wiederholte Erregung unter Jodessigsäure bei der beschriebenen Dosierung nicht möglich. Dieser Unterschied im Substratgehalt bedingt hier also beträchtliche Unterschiede beider Gewebstypen in ihrer Empfindlichkeit gegen Jodessigsäure. So ergeben sich an einem Gewebe, an dem man die Stoffwechselvorgänge gerade wegen der Substratarmut wohl besonders gut übersehen kann, bereits eine ganze Reihe neuer Gesichtspunkte für die Beurteilung der Jodessigsäurewirkung, die davor warnen, allzu voreilig aus Einzelbeobachtungen allgemein gültige Schlüsse zu ziehen.

3. Die Wirkung von Essigsäure und von Jod.

In weiteren Versuchen haben wir uns bemüht, einen Einblick in den Mechanismus der Jodessigsäurewirkung zu gewinnen. Dabei gingen wir von der Vorstellung aus, die Jodessigsäure gelange vielleicht dadurch zur Wirkung, daß sie z. B. mit einem Ferment, das normalerweise mit der Essigsäure als Zwischenprodukt des Kohlehydratstoffwechsels zu

reagieren hat, eine schwer dissoziable Bindung eingeht oder dadurch, daß anorganisches Jod abgespalten wird.

Aus solchen Gesichtspunkten heraus haben wir dann die Wirkung der Essigsäure auf den Stoffwechselablauf am Speicheldrüsengewebe untersucht. Dabei war zunächst die Frage zu prüfen, ob Acetat als Substrat für den Erregungsstoffwechsel dienen kann, ähnlich wie wir dies vorher z. B. für die Glucose, die Milchsäure, die Bernsteinsäure und andere Substanzen nachgewiesen hatten[3]. Wir benutzten dasselbe Verfahren wie damals, indem wir die Substratreserven des Gewebes durch Reizung in substratfreier Lösung erschöpften und nur die Essigsäure in Konzentrationen von 20—200 mg% als Substrat anboten. Nachdem wir dem Gewebe mindestens 2 Stunden Zeit nach dem Acetatzusatz für etwaige Synthesen gelassen hatten, wurde nun durch Zusatz von Azetylcholin gereizt. Das Auftreten des bekannten Erregungsstoffwechsels würde dann zeigen, ob die Essigsäure zum Substrataufbau benutzt wurde oder nicht. Alle diese Versuche verliefen völlig ergebnislos. Das Gewebe verhielt sich so, als ob überhaupt kein Substrat vorhanden sei. Damit läßt sich mit Sicherheit sagen, daß die Essigsäure als alleiniges Substrat für die Bestreitung des Erregungsstoffwechsels am Speicheldrüsengewebe nicht geeignet ist.

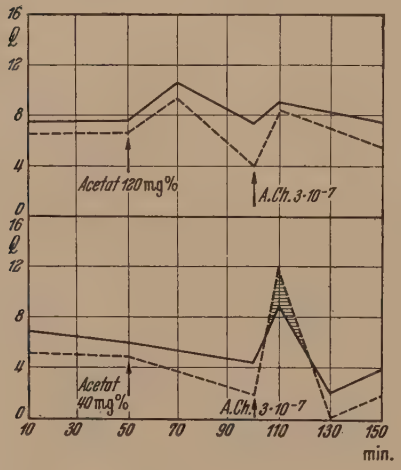


Abb. 2. Die Wirkung verschiedener Konzentrationen von Essigsäure auf den Stoffwechselablauf von Speicheldrüsengewebe im Ruhezustand und nach Reizung durch Azetylcholin. Tyrodelösung mit 200 mg% Glucose.
a) Nach 120 mg% Acetat volle Hemmung des Erregungsstoffwechsels ohne Beeinträchtigung des Ruhestoffwechsels. Vgl. Abb. 1b.
b) Nach 40 mg% Acetat. Bereits deutlicher Erregungsstoffwechsel möglich. Grenzdosis. Vgl. Abb. 1d.

Dann wurde untersucht, ob die Essigsäure überhaupt einen Einfluß auf den „Ruhe"- oder „Erregungsstoffwechsel" hat. Dies geschah durch Versuche, bei denen der glucosehaltigen Ringerlösung, in der das Speicheldrüsengewebe geradezu beliebig oft und stets mit kräftigen Stoffwechselsteigerungen auf Azetylcholin reagiert, verschiedene Mengen Essigsäure zugesetzt wurden. Anschließend wurde die Reaktion des Stoffwechsels auf Azetylcholin geprüft. Der Zusatz der Essigsäure erfolgte als Acetat in gepufferter Lösung während des Versuchs aus einer Anhangsbirne. Die angegebenen Konzentrationen sind auch hier als „Endkonzentrationen" zu verstehen und sind auf Essigsäure berechnet.

Diese Versuche hatten höchst überraschende Ergebnisse. Es zeigte sich nämlich, daß Essigsäure in hohen Konzentrationen von mehr als

250 mg% schon den Ruhestoffwechsel zum Erlöschen bringt. Bei 100 mg% bleibt dieser unbeeinflußt, der Erregungsstoffwechsel dagegen wird vollkommen verhindert (Abb. 2a). Bei 40 mg% und weniger ist der normale Erregungsstoffwechsel mit aerober Säurebildung wieder möglich (Abb. 2b). Die Wirkung der Essigsäure zeigt also an diesem Objekt eine verblüffende Ähnlichkeit mit der Wirkung der Jodessigsäure, ist nur etwa 40—80mal schwächer wirksam als diese; d. h. z. B. zur völligen Hemmung des Erregungsstoffwechsels sind 2,5 mg% Jodessigsäure oder etwa 100 mg% Essigsäure erforderlich.

Diese Beobachtungen waren der Anlaß dafür, nun zu prüfen, ob denn die Essigsäure auch eine „glykolysehemmende" Wirkung besitzt, wie die

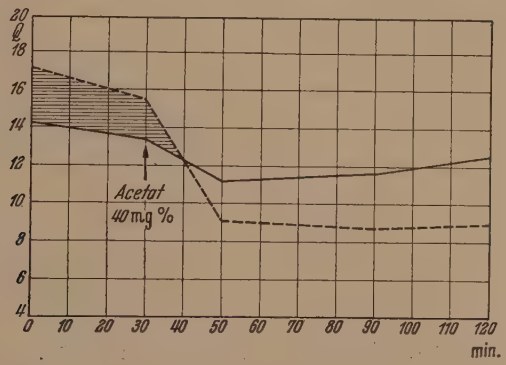


Abb. 3. Hemmung der Glykogenolyse von Leberschnitten der Ratte durch 40 mg% Acetat.

Jodessigsäure. Am Speicheldrüsengewebe ergab sich zunächst, daß die Konzentrationen Essigsäure, die überhaupt eine Wirkung auf den Erregungsstoffwechsel hatten, die Atmungssteigerung wie die Säurebildung gleichzeitig vergifteten, d. h. also, die Essigsäure wirkte auch in dieser Hinsicht ebenso wie die Jodessigsäure.

Da somit an diesem Gewebe ein klares Resultat nicht zu erzielen war, haben wir untersucht, ob die Essigsäure eine Wirkung auf die Glykogenolyse der Leber hat, wie dies für die Jodessigsäure gilt. Das war tatsächlich und in auffallendem Maße der Fall. Eine Essigsäurekonzentration von etwa 20 mg% hob die Säurebildung vollkommen auf. Auch in dieser Hinsicht besteht also eine auffallende Ähnlichkeit mit der Wirkung der Jodessigsäure.

Weiter war nach den oben angestellten Überlegungen die Frage zu klären, ob elementares Jod eine so starke Wirkung auf den Stoffwechsel des Speicheldrüsengewebes hat, daß die geringen, aus der Jodessigsäure etwa abgespaltenen Mengen Jod größenordnungsmäßig für eine Erklärung der Wirkung der Jodessigsäure in Betracht kommen könnten. Wir untersuchten deshalb den Stoffwechsel in einer Ringerlösung mit verschiedenem

Jodgehalt. Das Jod wurde mit Jodkali in Lösung gebracht. Die Konzentration wurde auf elementares Jod berechnet.

Die Versuche ergaben mit aller Eindeutigkeit, daß Jod in den in Frage kommenden Konzentrationen keine irgendwie hemmende Wirkung auf den Erregungsstoffwechsel der Speicheldrüse hat (Abb. 4). Seine Dauer war eher verlängert, seine Höhe sicher nicht geringer als normal. Danach handelt es sich bei der Jodessigsäure um eine Wirkung des ganzen Moleküls.

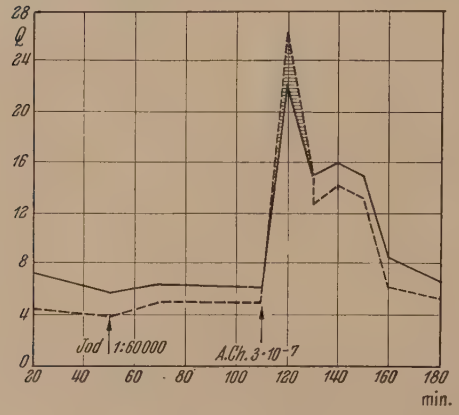


Abb. 4. Die Wirkung von Jod auf den Stoffwechselablauf von Speicheldrüsenschnitten im Ruhezustand und nach Reizung durch Azetylcholin.

4. Versuche am Froschherzen.

Nach den hier mitgeteilten Versuchsergebnissen besteht am Speicheldrüsengewebe eine weitgehende Übereinstimmung in der Wirkung der Jodessigsäure und der der Essigsäure in höheren Konzentrationen. Damit gewann die bereits erwähnte Anschauung Nahrung, die Wirkung der Jodessigsäure beruhe wenigstens zum Teil auf einer Blockade eines normalerweise von der Essigsäure zu besetzenden Ferments.

Wenn diese Annahme zu Recht besteht, müßte es möglich sein, die Jodessigsäure durch entsprechend größere Mengen Essigsäure zu verdrängen und damit einen Teil der Giftigkeit wieder aufzuheben.

Abb. 5a. Die Wirkung von Jodessigsäure auf das isolierte schlagende Froschherz und ihre Beeinflussung durch Acetat.
Stillstand nach Jodacetatvergiftung durch Auswaschen mit Tyrodelösung nicht aufhebbar.

Derartige Versuche haben wir am schlagenden Froschherzen nach Straub gemacht. Die Funktion dieses Organs läßt sich bekanntlich aus-

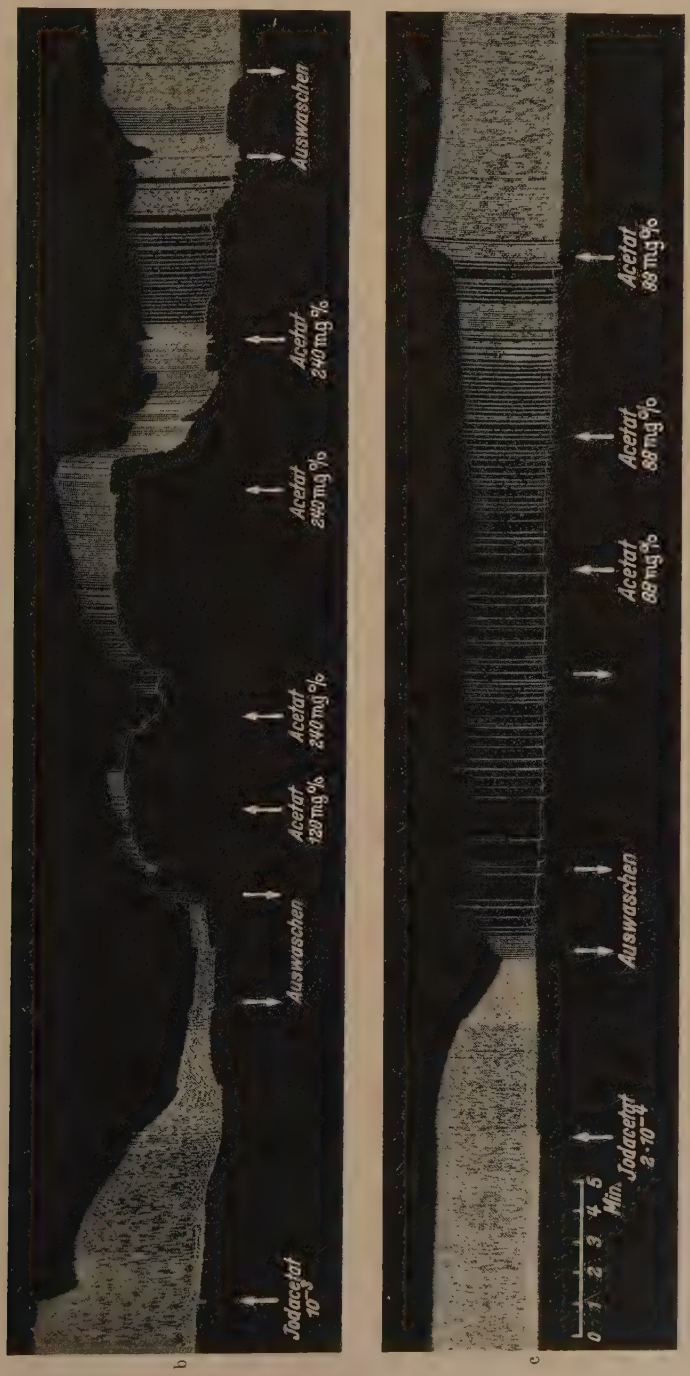


Abb. 5b und c. Die Wirkung von Jodessigsäure auf das isolierte schlagende Froschherz und ihre Beeinflussung durch Acetat. Wiederherstellung nach Auswaschen mit acetathaltiger Tyrodelösung.

gezeichnet fortlaufend beobachten und registrieren, ferner ist hier ein häufiges Spülen mit wechselnden Lösungen möglich.

Zunächst wurde die Jodessigsäurekonzentration bestimmt, die gerade den völligen Stillstand des Herzens oder eine weitgehende Abnahme der Hubhöhe bewirkt. Das war bei 1 : 5000 bis 1 : 1000 sicher der Fall. Das Froschherz ist also um mindestens die Hälfte weniger empfindlich gegenüber der Jodessigsäure als die Speicheldrüse des Warmblüters. Die Wirkung war praktisch irreversibel, es trat keine spontane Wiederherstellung der Herzreaktion ein. Auch häufig wiederholtes Auswaschen mit Tyrodelösung blieb praktisch ohne Erfolg (Abb. 5a).

Im einzelnen ergab sich bei der Jodessigsäurewirkung stets etwa das folgende Bild: Die Hubhöhen nahmen schnell ab, wobei es auffällig war, daß die zirkulär verlaufenden Muskelzüge des Ventrikels beträchtlich unempfindlicher waren, als die von der Basis zur Spitze verlaufenden Fasern, deren Kontraktion mit der verwendeten Technik ja vorwiegend registriert wird. Die Vorhofsmuskulatur schlug selbst bei vollkommen stillstehenden Ventrikeln noch unverändert weiter und wurde erst durch weit höhere Giftkonzentrationen gelähmt. Diese verschiedene Empfindlichkeit verschiedener Teile der Herzmuskulatur erscheint uns bemerkenswert. Solche Unterschiede sind auch Lundsgaard[9] an anderen Objekten aufgefallen. Nach dem Stillstand trat meist eine mehr oder weniger ausgesprochene Kontraktur ein (Abb. 5b), die aber bei schwächeren Dosen auch fehlte (Abb. 5c).

In den folgenden Versuchen mit Acetat verfuhren wir so, daß wir nach Vergiftung des Herzens mit Jodessigsäure den Stillstand oder wenigstens das Einstellen auf eine geringe Resthubhöhe abwarteten und dann zunächst den Versuch machten, durch Auswaschen mit normaler Tyrodelösung eine Wiederherstellung zu erreichen. Das gelang aber praktisch nie. Erst dann gaben wir zum Kanüleninhalt Essigsäure (20—240 mg%) als Natriumacetat hinzu, also ohne Wechseln der Lösung. In den meisten Fällen begann das Herz nun allmählich wieder zu schlagen, bzw. die Kontraktionen nahmen bald an Stärke zu. Oft erreichte das Herz nach einiger Zeit sogar die alte Hubhöhe wieder; das war aber keineswegs immer der Fall. Da, wo eine beträchtliche Kontraktur bestand, löste sie sich unter der Einwirkung des Acetats mit der Aufnahme der Herzaktion wieder (Abb. 5b). Die volle Wirkung trat jedoch nur dann ein, wenn das Herz mehrfach mit acetathaltiger Ringerlösung ausgespült wurde. Der Acetatzusatz allein genügt also hierfür nicht. Das spricht wohl etwas für die angenommene Verdrängung der Jodessigsäure. Die dauernde Anwesenheit der Essigsäure war nicht erforderlich, die Herzen schlugen auch dann weiter, wenn nach einiger Zeit die acetathaltige Ringerlösung gegen eine normale ausgewechselt

[9] Lundsgaard, E.: Biochem. Z. **230**, 10 (1931).

wurde (Abb. 5b). Es gelingt also am Froschherzen, die Jodessigsäurewirkung durch mehrfaches Auswaschen mit Acetat zum großen Teil wieder aufzuheben. Allerdings bestanden oft anhaltende Überleitungsstörungen, so daß nur jeder zweite oder dritte Vorhofsschlag zu einer Ventrikelkontraktur führte.

Anschließend haben wir den Versuch gemacht, ob es möglich ist, die Funktion des jodessigsäurevergifteten Froschherzens auch durch andere Substanzen, nämlich mit Lactat, Succinat, Fumarat, Ascorbinat und Bicarbonat wiederherzustellen. Interessanterweise gelang dies praktisch nur noch mit Milchsäure. 120 mg % Lactat hatte oft sogar eine noch bessere Wirkung als Acetat. Ferner gelang es oft, den bessernden Effekt von Acetat durch zusätzliche Gaben von Lactat noch weiter zu steigern.

Ein beträchtlicher Teil der Jodessigsäurewirkung läßt sich also an diesem Objekt aufheben, wenn Milchsäure zugefügt wird, deren Bildung ja durch die Jodessigsäure unterdrückt wurde. Ihre Giftwirkung auf die lebende Funktion dürfte also zum Teil doch auf der Hemmung der Milchsäurebildung beruhen. Daß die im Stoffwechsel anfallende Milchsäure keineswegs gleichgültig für die Stoffwechselvorgänge der Gewebe ist, sondern sogar über eine Substratfunktion hinaus noch wesentliche biologische Wirkungen zu haben scheint, haben wir an anderer Stelle[3] gezeigt. Lundsgaard[2] meint, daß die Milchsäure für die Resynthese wichtig sei.

Um noch einen weiteren Hinweis zur Frage zu gewinnen, ob ein Teil der Giftwirkung der Jodessigsäure auf dem Fehlen der Milchsäure beruht, deren Bildung nun unterdrückt ist, haben wir dem Froschherzen vor der Vergiftung mit Jodessigsäure Milchsäure als Lactat in einer Konzentration von 120 mg% (stets berechnet auf Milchsäure) zugesetzt. Unter diesen Umständen haben wir oft selbst bis zu einer Jodessigsäurekonzentration von $8 \cdot 10^{-4}$ keine wesentliche Hemmung der Herzaktion gesehen, d. h. die Milchsäure schützte das Herz deutlich gegen die Giftwirkung der Jodessigsäure.

In der Literatur[10] liegen eine ganze Reihe von übereinstimmenden Angaben darüber vor, daß Säugetiergewebe auch in Anwesenheit von Jodessigsäure Kohlenhydrat oxydieren können, vor allem hat schon Krebs[11] gezeigt, daß bei Angebot von Lactat der Stoffwechsel auch dann weitergeht, wenn so hohe Jodessigsäurekonzentrationen angewendet wurden, daß vorher sogar die Atmung unterdrückt war. Da der Herzmuskel bekanntlich[12] Milchsäure als wesentlichen Betriebsstoff verwendet, kann die Vergiftung der Milchsäurebildung für dies Gewebe sicher nicht gleichgültig sein.

---

[10] Barker, Schorr u. Malam: J. biol. Chem. (Am.) **129**, 33 (1939). — [11] Krebs, H. A.: Biochem. Z. **234**, 281 (1931). — [12] Evans: J. Physiol. (Brit.) **80**, 21 (1933); Rühl u. Rolshoven: Klin. Wschr. **1933**, S. 776.

Zusammenfassung.

1. Die Konzentration Jodacetat, die die „Glykolyse" des Speicheldrüsengewebes hemmt, macht auch den gesamten „Erregungsstoffwechsel" an diesem Gewebe unmöglich.

2. Die Grenzkonzentration Jodacetat, die die im „Erregungsstoffwechsel" des Speicheldrüsengewebes auftretende Atmungssteigerung vergiftet, hat auf die Atmung des ruhenden Gewebes keinen Einfluß.

3. Die Konzentration Jodacetat, die den „Erregungsstoffwechsel an diesem Gewebe gerade vollkommen zuläßt, vergiftet den Erholungsvorgang vollständig.

4. Acetat wirkt am Speicheldrüsengewebe ähnlich wie Jodacetat. Das letztere ist etwa 50mal stärker wirksam.

5. Acetat hemmt die „Glykolyse" des Lebergewebes stark.

6. Die Jodacetatvergiftung des schlagenden Froschherzens läßt sich durch Acetat oder Lactat zum großen Teil aufheben.

Printed in Germany

Aus der II. Medizinischen Universitätsklinik der Charité in Berlin.
(Direktor: Prof. Dr. G. von Bergmann.)

Experimentelle Untersuchungen über Steinbildung in den Harnwegen nach Sulfonamidzufuhr.

Von

S. Thaddea und **R. Zoloff.**

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 16. April 1943.)

Einleitung und Fragestellung.

Die Einführung der Sulfonamide hat in der Heilkunde unbestreitbar eine neue Ära der Chemotherapie eingeleitet. Diese Substanzen haben durch erfolgreiche Behandlung fieberhafter, infektiöser Erkrankungen mit Recht immer größeren Eingang in die Klinik gefunden (Domagk und Hegler). Es ist nach den übereinstimmend günstig lautenden Urteilen über die Wirkungen dieser Stoffe gewiß keine Übertreibung, wenn man die Feststellung trifft, daß die Einführung dieser Arzneimittelgruppe wohl den größten Fortschritt in der praktisch anwendbaren Chemotherapie der bakteriellen Infektionen bedeutet. Die Zahl dieser Mittel ist bereits auf mehrere Hunderte angestiegen, das Schrifttum hierüber kaum mehr übersehbar.

Die Verträglichkeit der Sulfonamide ist individuell außerordentlich verschieden, schon bei geringer Dosierung können unter Umständen Nebenerscheinungen auftreten (z. B. Übelkeit, Erbrechen, Schwindel, Kopfschmerzen, Fieber, masern- oder scharlachähnliche Hautausschläge, Neuritiden, Psychosen, Cyanose als Zeichen einer Methämoglobinämie, Gelbsucht mit hämolytischer Anämie oder Hepatitis, Conjunctivitis und Episcleritis, Blutbildveränderungen wie hämolytische Anämien und Agranulocytosen). Meist handelt es sich bei diesen Nebenwirkungen um leichtere, selten nur um schwerere oder lebensgefährliche Erscheinungen. Es ist daher verständlich, daß immer wieder von klinischer Seite vor der kritiklosen Anwendung und hohen Dosierung der Sulfonamide gewarnt wird.

Von Nebenerscheinungen an den Nieren und abführenden Harnwegen interessieren uns in erster Linie die nicht seltenen Steinbildungen, die mitunter in einzelnen Fällen als größere Konkremente Nierenbecken und Harnleiter verstopfen und damit zu bedrohlichen Komplikationen (Anurie, Azotämie, Urämie) führen können.

In zahlreichen Arbeiten sind derartige Veränderungen in den Harnwegen beschrieben worden. Graham und Mitarbeiter berichten als erste über Nephroli-

thiasis nach Sulfapyridintherapie. Gsell findet charakteristische Kristalle im Urin nach Thiazolgaben. In einem tödlich ausgelaufenen Krankheitsfall, den Huber mitgeteilt hat, kommt es nach Dagénanverabreichung zu einer Anurie und Urämie, während vorher bei demselben Patienten Cibazol keinerlei Nebenerscheinungen verursacht hatte. Tsao und Mitarbeiter erleben bei einem achtjährigen Kinde im Anschluß an eine Sulfapyridinbehandlung den Ausbruch einer letal endenden Urämie; die Sektion ergibt hierbei Verlegung beider Ureteren durch ausgedehnte Steinbildungen. Trachsler sieht dagegen nach Zufuhr des französischen Präparates Dagénan bei Pneumonien im Kindesalter niemals Nephritiden und Hämaturien. Vondra vermißt ebenfalls Schädigungen des Nierenparenchyms nach Sulfonamidverabreichung. Nach Diseptalgabe wird gelegentlich Anurie beobachtet (Grünig). Pepper und Mitarbeiter stellen bei einem Kranken, der Sulfathiazol erhalten hatte, autoptisch Steinbildungen in den Tubuli, Nierenbecken und in der Blase fest. Bechgaard und Vermehren weisen darauf hin, daß bei einem 26jährigen Mann 10 Stunden nach Beginn einer Sulfapyridinbehandlung wegen Lungenkatarrhs, als insgesamt 8 g gegeben waren, eine vollständige Anurie auftritt, die erst durch Einlegen von Ureterenkathetern rasch und vollständig behoben werden konnte. In Harnleitersteinen werden 14—16% freies und 84—86% Azetylsulfapyridin nachgewiesen. In diesem Zusammenhang interessiert eine ähnliche von Sjövall und Lindgren mitgeteilte eindrucksvolle Krankenbeobachtung. Bei einer Patientin mit Alveolarperiostitis tritt nach Verabreichung von 16 g Sulfapyridin (2 Tage nach Beginn der Klinikbehandlung) Hämaturie mit Leibschmerzen und einige Tage darauf Anurie mit schwerem urämischen Zustandsbild (Bewußtlosigkeit, starke Cyanose, Blutdrucksteigerung, Lungenödem, Anstieg des Rest-N auf 266 mg%) auf. Man dachte zunächst an Nierensteinerkrankung, dann an akute Nephritis (infektiöser Art), schließlich an ein mechanisches Hindernis durch Sulfapyridinniederschlag. Da eine regelrechte Harnleiterkatheterisierung technisch unmöglich ist, wird auf operativem Wege eine doppelseitige Nierenbeckenfistel (Pyelostomie) mit Katheterdrainage nach Entkapselung der unter starkem Druck stehenden Nieren angelegt. 8 Tage nach der Operation erfolgt spontane Urinentleerung auf dem richtigen Wege, die Kranke wird später geheilt entlassen. Diese Krankenbeobachtung lehrt, daß man bei mehrmaliger Sulfapyridinverabfolgung den Harn möglichst oft untersuchen soll, um derartigen schweren (urämischen) Folgezuständen vorzubeugen.

Bemerkenswert ist eine Krankenbeobachtung von Loewenberg und Mitarbeitern, die nach Verabreichung von insgesamt 52 g Sulfathiazol tödlich ausläuft, ohne daß Ausfallserscheinungen von seiten der Nieren klinisch nachweisbar sind. Erst durch die Sektion wird Steinbildung in den Nieren festgestellt. Hegglin sieht bei $1^1/_2$% aller mit Sulfapyridin bzw. Sulfathiazol behandelten Krankheitsfälle schwere Hämaturien, während nach Cibazolbehandlung (33 bzw. 22 g) 2 Patienten Steinbildung aufweisen. Auch von Stryker sind Steine im Tubulusapparat nachgewiesen worden. Im Gegensatz hierzu betont Miescher auf Grund eines umfangreichen Krankengutes, daß nach seinen Erfahrungen mittlere Sulfonamiddosen bei Gonorrhoekranken niemals zur Steinbildung Anlaß gegeben haben.

Antopol und Robinson haben bei Kaninchen bereits wenige Stunden nach oraler Verabreichung großer Dosen von Sulfapyridin nadelförmige Kristalle dieser Substanz im Urin nachgewiesen. Später wurden im Harnleiter Zusammenballungen dieser Kristalle gefunden, die sogar in einigen Fällen zu Steinbildungen führten und Pyelonephritiden zur Folge hatten. Durch Verfütterung von Sulfapyridin in geeigneten Dosen läßt sich auch bei Ratten und Affen eine Urolithiasis erzeugen. Die Konkremente lassen sich weder auflösen noch auswaschen. Die Frage, ob dieser Steinbildung andere degenerative Erscheinungen oder Gefäßveränderungen in der Niere vorausgehen, wird offengelassen. Bei Zufuhr von Natrium-Sulfapyridin

genügen kleinere Dosen, um die Steinbildung zu erzielen. Das histologische Bild der degenerativen Nierenveränderungen ist hierbei noch ausgeprägter als nach Sulfapyridingabe.

Bezüglich des Entstehungsmechanismus der Steinbildung wird heute übereinstimmend angenommen, daß hierfür in erster Linie die schlechte Löslichkeit der Sulfonamidkörper verantwortlich zu machen ist (Hegglin). Auffallend ist, daß sich Steine keineswegs nur nach großen Sulfonamiddosen (Hegglin) bilden, sondern merkwürdigerweise auch nach durchaus normalen Dosen (Enger, Arnett, Miescher). Diese Tatsache kann nur so gedeutet werden, daß noch andere Faktoren (z. B. das p_H im Urin) hinzukommen müssen, welche offenbar die Löslichkeit dieser Substanzen beeinflussen (Druey und Meier).

Mikroskopische oder makroskopische Hämaturien, die nicht ganz selten nach konsequenter Durchführung der Sulfapyridin- oder Sulfathiazolbehandlung beobachtet werden, sind wohl meist durch Ablagerung von Sulfapyridin- bzw. Sulfathiazol-Azetyl-Kristallen bedingt. Pepper und Ham betonen, daß beim Sulfapyridin die Azetylkristalle hauptsächlich im Nierenbecken und Ureter, beim Sulfathiazol mehr in den Nierentubuli ausfallen. Das Sulfapyridin kristallisiert in charakteristischen tyrosinähnlichen büschelförmigen Nadeln (Huber, Domagk und Hegler). Manchmal können die Konkremente auch röntgenologisch (Antopol und Robinson) nachgewiesen werden, eine Feststellung, die aber von Huber nicht bestätigt wird. Hegglin ist der Auffassung, daß nach Absetzen der Sulfonamidpräparate sämtliche Folgeerscheinungen rasch zurückgehen, ohne daß ernstere Schäden auftreten. Der entgegengesetzten Meinung sind Rake und Mitarbeiter, die experimentell an Ratten und Affen feststellen konnten, daß durch langdauernde Verabreichung hoher Sulfonamiddosen irreparable funktionelle Störungen von seiten der Nieren auftreten.

Aus allen bisherigen klinischen Mitteilungen der Weltliteratur geht eindeutig hervor, daß vorwiegend die Zufuhr von Substanzen aus der Sulfanilamidreihe [wie z. B. das Sulfanilamidpyridin (das französische Präparat Dagénan), das deutsche Präparat Eubasin, das englische Präparat M & B 693 und das amerikanische Präparat Sulfapyridin] Steinbildung in den Nieren und abführenden Harnwegen hervorruft (vgl. auch Vonkennel). In vorliegender Arbeit haben wir uns die Aufgabe gestellt, im Tierversuch (Ratten) zu prüfen, ob es auch hier nach Zufuhr der in der Praxis meist angewandten Sulfonamidderivate, nämlich von Marfanil (= salzsaures Salz des 4-Aminomethylbenzolsulfonamids), Prontosil rubrum (= 4-Sulfonamid-2′, 4′-diaminoazobenzol), Tibatin (= Galaktosid des 4, 4′-Diaminodiphenylsulfon), Albucid (= Azetylsulfanilamid) und von Eubasin [= α-(p-Aminobenzolsulfonamido)-pyridin], zur Steinbildung in den Harnwegen kommt. Besonders interessierte uns bei den steinbildenden Sulfonamiden die Frage nach der Bedeutung der Größe der einzelnen und

allgemeinen Dosis einerseits sowie der Dauer der Gabe der betreffenden Substanz bis zum Beginn der Steinbildung andererseits. Wir hofften hierdurch vor allem klarzustellen, ob zur Steinbildung große oder kleine Sulfonamiddosen, kurz- oder langfristige Gaben dieser Stoffe notwendig sind. Außerdem schien es uns wichtig, die Veränderungen im Harn zu untersuchen, welche die Urolithiasis zu begleiten pflegen. Schließlich hielten wir es noch für angebracht, auf die Natur der Steine selbst und ihren etwaigen röntgenologischen Nachweis kurz einzugehen.

Methodik.

Als Versuchstiere für unsere experimentellen Untersuchungen dienten Ratten mit einem Durchschnittsgewicht von 250—300 g. Die Nahrung bestand aus gemischter Kost (Brot, Körner, Wasser ad libitum). Gewicht und Temperatur wurden fortlaufend kontrolliert. Jede Ratte hatte ihren eigenen Glaskäfig, so daß die Möglichkeit bestand, den Harn jedes einzelnen Tieres durch ein Filter von Glaswolle getrennt aufzufangen. Die Tiere wurden bereits vor Beginn des eigentlichen Versuchs 2 Wochen einzeln in die entsprechenden Käfige gesetzt, um ihnen Gelegenheit zu geben, sich allmählich an die neuen Lebensbedingungen zu gewöhnen. Nur diejenigen Ratten, die völlig gesund waren und keinerlei pathologische Veränderungen im Urin aufwiesen, wurden für die Untersuchungen ausgewählt.

Den Versuchstieren wurde täglich das betreffende Sulfonamidpräparat mittels Schlundsonde zugeführt, und zwar bei der ersten Versuchsserie mit 20%iger wässeriger Marfanil-, 20%iger Prontosil rubrum-, 20%iger Tibatin-, 30%iger Albucid- und 30%iger Eubasinlösung. Für die weiteren Versuchsserien benutzten wir nur 30%iges Eubasin, das wir täglich in steigenden Dosen bis zum Tode der Tiere zuführten. Um die Steinbildung in den Harnwegen genau verfolgen zu können, wurden andere Ratten in bestimmten Zeitabständen (z. B. nach 24 Stunden, nach 48 Stunden usw.) durch Genickschlag getötet. Nach dem Tode wurden sämtliche Tiere seziert, wobei vor allem auf etwaige Steinbildungen in den Nieren und abführenden Harnwegen (Harnleiter, Blase) geachtet wurde.

Während der ganzen Versuchsdauer wurde der Harn, der durch Glaswolle filtriert wurde, täglich hinsichtlich Menge, spezifisches Gewicht, Eiweiß und Sediment untersucht. Zwecks Vermeidung der ammoniakalischen Zersetzung des Urins, bei der sich sonst massenhaft Tripelphosphatkristalle bilden, haben wir den Harn in Gefäßen aufgefangen, die in Eisbehältern standen. Schließlich haben wir bei einer Anzahl von Tieren Röntgenaufnahmen angefertigt, um eventuelle Steinbildungen bereits intra vitam festzustellen.

Ergebnisse am Tier.

1. Vergleichsuntersuchungen mit Marfanil, Prontosil, Tibatin, Albucid und Eubasin.

Zu den Hauptaufgaben der vorliegenden Arbeit gehört die auch praktisch sehr wichtige Frage der Steinbildung in den Harnwegen nach Zufuhr der oben erwähnten Sulfonamidpräparate. Das vorliegende Untersuchungsmaterial stützt sich auf insgesamt 45 Ratten, denen die entsprechenden Sulfonamide täglich durch die Schlundsonde zugeführt werden. Als Kontrolltiere dienen 7 Ratten, die unter denselben Lebens- und Untersuchungsbedingungen stehen, aber keinerlei Medikamente erhalten.

a) Marfanilversuche.

6 Ratten mit einem Gewicht von 250—300 g erhalten zunächst durch Schlundsondenverabreichung 1 g Substanz pro kg Tier, später wird die Dosis täglich um 0,1 g gesteigert. Das Marfanil muß auf Grund unserer Ergebnisse als wenig toxisch bezeichnet werden, da nach 25tägiger Applikation von insgesamt 6—7 g Substanz pro kg Körpergewicht die Tiere immer noch munter sind und keinerlei toxische Nebenwirkungen bzw. Veränderungen in den Harnwegen aufweisen. Sämtliche Tiere werden daher getötet, weil wir uns von einer Weiterführung der Versuche nichts versprechen. Nur bei einer Ratte wird Marfanil weiter verabreicht, sie stirbt am 34. Tage bei einer Gesamtdosis von 14 g Substanz pro kg Körpergewicht.

Ergebnis. Der Urin zeigt nach Marfanilzufuhr in den angegebenen Dosen keine gröberen pathologischen Veränderungen, nur bei einigen Ratten finden sich geringe Spuren von Eiweiß. Bemerkenswert sind die Sektionsbefunde, aus denen eindeutig hervorgeht, daß nach Marfanilgaben weder in den Nieren noch in den abführenden Harnwegen Steinbildungen auftreten.

b) Prontosilversuche.

6 Ratten wird Prontosil rubrum, das in Wasser schlecht löslich ist, durch die Schlundsonde als einfache wässerige Mixtur zugeführt. Die Dosierung ist die gleiche wie beim Marfanil (anfangs 1 g Substanz pro kg Körpergewicht, später Steigerung der Dosis um täglich 0,1 g). Das Präparat erweist sich als stark toxisch. Die Tiere gehen schnell zugrunde; 2 Ratten sterben am 4. Tage, 2 am 5. und 2 am 7. Tage.

Ergebnis. Die Sektion deckt bei den Prontositieren weder in den Nieren noch in den Harnleitern bzw. in der Blase Steine auf.

c) Tibatinversuche.

Die Ergebnisse unserer Tibatinversuche stützen sich auf 6 Ratten. Als Präparat haben wir die handelsübliche 20%ige Tibatinlösung benutzt, die an und für sich nur für Injektionen und nicht für die orale Zufuhr bestimmt ist. 2 Tiere, die durch Schlundsondenverabreichung die gleiche Dosis wie die Marfaniltiere erhalten, gehen bereits am 4. Tage zugrunde. Den übrigen 4 Ratten geben wir kleinere Tibatindosen (zunächst 0,5 g Substanz pro kg Körpergewicht, darauf Dosissteigerung um täglich 0,02 g). Bei dieser Mengenverabreichung stirbt das eine Tier am 3. Tage (Gesamtdosis 0,2 g Tibatin), das andere Tier am 9. Tage (Gesamtdosis 0,3 g Tibatin), während die beiden letzten Ratten am 12. Tage bei einer Gesamtdosis von 0,35 g Tibatin zugrunde gehen.

Ergebnis. Steine werden in den Harnwegen autoptisch weder bei der einen noch bei der anderen Tibatinversuchsgruppe gefunden.

d) Albucidversuche.

Zu den vorliegenden Untersuchungen werden 10 Ratten angesetzt. 6 Tiere erhalten das Albucid in Form einer 30%igen Lösung (anfangs 0,3 g Substanz pro kg Körpergewicht, später Dosissteigerung um täglich 0,075 g). Aus dieser Versuchsreihe stirbt ein Tier am 2. Tage bei einer Gesamtalbuciddosis von 0,18 g, 3 andere Tiere gehen am 3. Tage bei einer Gesamtalbucidmenge von 0,25 g zugrunde. Die letzten 2 Ratten sterben am 10. Tage nach Applikation einer Gesamtdosis von 0,7 g Albucid.

Bei den übrigen 4 Tieren werden kleinere Albuciddosen durch die Schlundsonde verabfolgt (beginnend mit 0,25 g Substanz pro kg Körpergewicht und bis zum 8. Tage allmählich steigernd um täglich 0,03 g, nach dem 9. Tage um 0,075 g). Aus dieser Versuchsserie geht das erste Tier am 13. Tage bei einer Gesamtdosis von 0,65 g zugrunde, das zweite Tier am 25. Tage bei einer Gesamtmenge von 1,5 g, während die beiden letzten Ratten am 25. Tage nach Verabreichung von insgesamt 1,65 g Albucid sterben.

Ergebnis. Die Sektion der Tiere beider Albucidversuchsreihen ergibt keinerlei Anhalt für Steinbildungen in den uropoetischen Organen.

e) Eubasinversuche.

Diese Versuchsgruppe umfaßt 10 Ratten. Die Menge des zugeführten Eubasins, die bei 6 Tieren zunächst 0,3 g Substanz pro kg Körpergewicht beträgt, wird später täglich um 0,075 g gesteigert. 3 Tiere dieser Versuchsserie sterben am 3. Tage bei einer Gesamtdosis von 0,25 g Eubasin. Eine Ratte geht am 4. Tage nach Zufuhr von insgesamt 0,3 g und eine andere Ratte am 7. Tage nach Verabreichung von insgesamt 0,45 g Eubasin zugrunde. Bemerkenswert ist vor allem, daß ein Tier, welches im Laufe von 7 Tagen im ganzen 0,45 g Eubasin durch die Schlundsonde erhalten hatte, trotz Absetzens dieser Medikation weiter verfällt und am 30. Tage in einem urämieähnlichen Zustande stirbt.

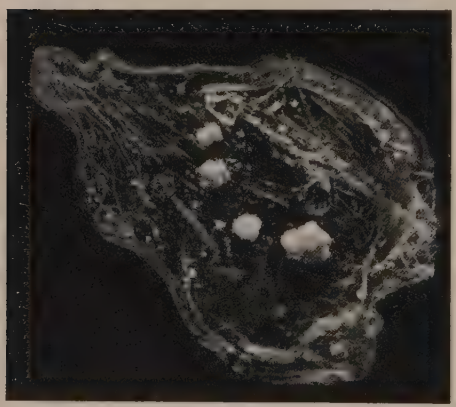


Abb. 1. Blasensteine nach oraler Eubasinzufuhr bei der Ratte.

Bei den übrigen 4 Tieren wird die Eubasindosis herabgesetzt (beginnend mit 0,2 g Substanz pro kg Körpergewicht und ansteigend um täglich 0,03 g). Von diesen Ratten gehen 3 am 19. Tage bei einer Gesamteubasindosis von 0,6 g zugrunde, das letzte Tier stirbt am 31. Tage nach Applikation von insgesamt 0,95 g Eubasin.

Ergebnis. Die Autopsie der Eubasintiere ergibt interessante Einzelheiten. Bei dem am 7. Tage gestorbenen Tier weisen die Harnwege (Nieren, Harnleiter, Blase) deutliche Steinbildung auf. Auffallend ist, daß nicht nur die Nierenbecken etwa linsen- bis hirsekorngroße Steine von etwas gelblicher Farbe und fester Konsistenz zeigen, sondern vor allem auch die Nierenparenchyme in Form makroskopisch kaum sichtbarer punktförmiger Steinbildungen. Die Blase dieses Tieres, die noch Spuren blutigen Harns enthält, ist ebenfalls mit Steinen angefüllt. Die Blasenschleimhaut selbst ist hämorrhagisch injiziert.

Interessant ist, daß das andere Tier, welches innerhalb von 7 Tagen 0,45 g Eubasin erhalten hatte und dann ohne Medikament geblieben war, in den uropoetischen Organen keine Steinbildung erkennen läßt. Die am 3. und 4. Tage gestorbenen Ratten sind pathologisch-anatomisch nicht untersucht worden. Dagegen zeigen die am 19. Tage ad exitum gekommenen 3 Eubasintiere sämtlich Steinbildungen, und zwar entweder nur in der Blase bzw. im Nierenbecken und Nierenparenchym oder überall in den Harnwegen (Nieren, Nierenbecken, Harnleiter, Blase). Das am 31. Tage gestorbene Tier hat merkwürdigerweise nur Blasensteine (Abb. 1).

f) Kontrolltiere.

Von 7 Kontrollratten sind 3 Tiere zu Beginn, die übrigen nach Beendigung der Versuche getötet worden. Wir haben uns durch die Sektion davon überzeugt, daß die Nieren, Nierenbecken, Harnleiter und die Blase keine Steine enthalten. Damit ist der Beweis erbracht, daß einmal normale Ratten keine Zeichen einer Urolithiasis aufweisen, und daß außerdem unsere Versuchsanordnung keinen Anlaß zur Steinbildung in den Harnwegen gegeben hat.

Als Gesamtergebnis unserer experimentellen Untersuchungen ist somit festzustellen, daß bei den Ratten, die Marfanil, Prontosil rubrum, Tibatin und Albucid auf dem Schlundsondenwege erhalten hatten, autoptisch keine Steine in den Harnwegen nachweisbar sind. Diese Feststellung ist um so erstaunlicher, als einigen Tieren dieser Versuchsreihe relativ große Dosen verabreicht werden. Selbst wenn tägliche Dosensteigerungen vorgenommen werden, die den raschen Tod der Tiere zur Folge haben, wird bei der Sektion keine Urolithiasis gefunden.

Aus den mitgeteilten Befunden ergibt sich weiterhin die Tatsache, daß auch bei verhältnismäßig niedriger Dosierung dieser Substanzen mit allmählicher Steigerung der Dosen keine Steinbildung in den Harnorganen beobachtet wird. Diese Art der Verabreichung ist deshalb besonders zweckmäßig, weil die Versuchstiere wesentlich länger leben als bei relativ hoher Dosierung. Es ist daher auf Grund unserer Untersuchungen zweifellos die Schlußfolgerung erlaubt, daß im Tierversuch sowohl hohe als auch niedrige Dosen von Marfanil, Prontosil rubrum, Tibatin und Albucid bei oraler Applikation zu keiner Steinbildung in den Nieren und abführenden Harnwegen führen.

Im Gegensatz hierzu bewirkt orale Eubasinzufuhr in den angegebenen Dosen bei Ratten meist ausgesprochene Steinbildung in den harnbereitenden Organen. Von insgesamt 10 Tieren haben wir bei 7 Ratten autoptisch Steinbildungen in den Nierenbecken, Harnleitern und in der Harnblase feststellen können.

Ein Versuchstier, bei dem nach Eubasinzufuhr keine Steine nachweisbar waren, hatte die gleiche Dosis erhalten wie dasjenige Tier, das am 7. Tage nach Verabreichung von 0,45 g Eubasin unter ausgedehnter Steinbildung in den Harnwegen zugrunde ging. Es zeigt dabei denselben schlechten Allgemeinzustand mit Oligurie und Hämaturie, so daß man zu der Annahme gedrängt wird, daß hier ebenfalls eine Urolithiasis vorliegt. Das Eubasin wird deshalb bei diesem Tier vom 8. Tage an abgesetzt, um zu sehen, ob der Normalzustand wieder erreicht wird. Auffallenderweise bessert sich aber das Allgemeinbefinden dieser Ratte nicht, sie verfällt weiter, scheidet sehr wenig Urin aus und stirbt nach 30 Tagen. Die Sektion ergibt nirgends Steinbildung in den Harnwegen. Ob überhaupt jemals Steine vorhanden waren, die später wieder der Auflösung anheimfielen, wobei sie Veränderungen im Nierenparenchym verursachten, die schließlich den Tod des Tieres herbeiführten, kann nicht mit Sicherheit entschieden werden.

Den beiden Ratten, die bei der Sektion keine Urolithiasis aufwiesen, ist die gleiche Eubasinmenge verabreicht worden wie den Tieren, die bereits nach 24 und 48 Stunden Steinbildung zeigten. Auch die objektiven Erscheinungen sind dieselben (z. B. schnelle Gewichtsabnahme, allgemeiner Verfall, Hämaturie mit typischen Eubasinkristallen im Harn, keine Anurie oder Oligurie, Tod in einem urämieähnlichen Zustand).

2. Eubasinversuche.

Die Feststellung, daß von den untersuchten Sulfonamidpräparaten nur das Eubasin steinbildend wirkt, veranlaßte uns, die weiteren Untersuchungen mit dieser Substanz allein fortzuführen. Für diese letzte Versuchsreihe sind 8 Ratten bestimmt worden, von denen 4 Kontrolltiere waren.

Die Versuche werden in der oben beschriebenen Weise durchgeführt. Jede Ratte befindet sich in ihrem eigenen Glaskäfig. Nach Gewöhnung an die neuen Lebensbedingungen erfolgt täglich Bestimmung des Körpergewichts und genaue mikroskopische und chemische Harnuntersuchung. Der Vorversuch dauert bei allen Tieren 4 Tage. Am 4. Tage werden 2 Kontrollratten getötet und seziert. Da die Harnorgane frei von Steinbildung sind, wird jetzt erst mit dem eigentlichen Versuch begonnen. Täglich wird ein Tier getötet, um auf diese Weise eine etwaige Steinbildung zu verfolgen. Die verabfolgte Eubasindosis, die anfangs 0,6 g beträgt, wird täglich um 0,075 g gesteigert.

a) Bedeutung des Zeitfaktors der Eubasinverabreichung für die Entstehung der Urolithiasis.

Von besonderer Bedeutung ist die Frage des Zeitfaktors der Eubasinzufuhr für die Entstehung der Steinbildung in den Harnwegen. Es in-

teressierte uns hier, wann es nach Eubasinverabreichung frühestens zur Steinbildung kommt, und ob langdauernde Eubasingaben die Steinbildung begünstigen.

Zur Klärung dieser Frage wird zunächst ein Tier 24 Stunden nach einmaliger Eubasinverabreichung getötet. Die Sektion ergibt gut ausgeprägte, feste Steine von gelblicher Farbe, die sich sowohl im Nierenbecken (Abb. 2) als auch in der Harnblase vorfinden (Abb. 3). Diese Ratte,

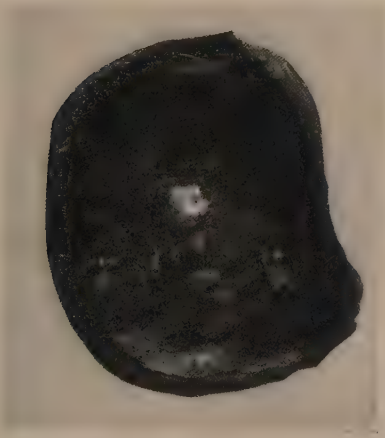


Abb. 2. Nierenbeckenstein bei der Ratte, 24 Stunden nach oraler Zufuhr von 0,6 g Eubasin.

Abb. 3. Ausgedehnte Blasensteinbildung bei der Ratte, 24 Stunden nach oraler Zufuhr von 0,6 g Eubasin.

die zu Beginn des Versuchs 188 g wiegt, hat 24 Stunden vorher nur eine Dosis von 2 ccm einer 30%igen Eubasinlösung erhalten, was 0.6 g Substanz oder ungefähr 3,3 g Eubasin pro kg Körpergewicht bedeutet.

Bei einem anderen Tier, das 48 Stunden nach Eubasinzufuhr getötet wird, werden autoptisch ebenfalls Steine in den Nieren gefunden, während die Harnblase frei davon ist. Die Steine sind hier genau so groß und zahlreich wie bei der 24 Stunden nach einmaliger Eubasingabe getöteten Ratte, obwohl das Tier die doppelte Eubasinmenge (1,2 g) erhalten hatte. Bei den Tieren, die 3—5 Tage nach Eubasinverabreichung zugrunde gehen, zeigt sich bei der Sektion keinerlei Anhaltspunkt für das Vorliegen einer Urolithiasis.

Aus diesen Befunden geht somit abschließend hervor, daß zur Steinbildung in den Harnwegen keineswegs langdauernde Eubasinzufuhr unbedingt notwendig ist. Als Beweis hierfür kann die Tatsache angeführt werden, daß Steine in den Harnorganen sich verhältnismäßig leicht und rasch (bereits 24—48 Stunden nach Verabreichung von Eubasin) bilden können (Abb. 2 und 3). Auffallend ist aber andererseits, daß nach 4- und 5tägigen Eubasingaben eine Urolithiasis nicht gefunden zu werden braucht.

b) Beziehungen zwischen Eubasinverabreichungsdauer und Größe bzw. Anzahl der Steine in den Harnwegen.

Größe und Anzahl der Steine in den Harnorganen sind nach unseren Erfahrungen unabhängig von der Eubasinverabreichungsdauer. Die Steine, die sich innerhalb von 24 Stunden bilden, entsprechen größen- und mengenmäßig durchaus denen, die nach Ablauf einer sehr langen Applikationsdauer (31 Tage) gefunden werden (vgl. Abb. 1—3). Besonders groß und zahlreich sind die Steine in den Harnwegen bei der am 7. Tage gestorbenen Eubasinratte. Zusammenfassend kann also festgestellt werden, daß der Zeitfaktor bzw. die Verabreichungsdauer der Eubasinzufuhr weder für die Steinbildung an sich noch für deren Anzahl und Größe von Bedeutung sind.

c) Röntgenologischer Nachweis der durch Eubasinverabreichung hervorgerufenen Urolithiasis.

Zwecks Entscheidung der Frage, ob die durch Eubasin gebildeten Steine in den Harnorganen strahlendurchlässig sind oder nicht, haben wir diesbezügliche Untersuchungen auch in dieser Richtung vorgenommen. Jedes Tier ist nach dem Tode geröntgt worden, eine Röntgenuntersuchung während des Lebens ist wegen der starken motorischen Unruhe der Tiere technisch undurchführbar gewesen. Die Röntgenuntersuchung der Harnwege ergibt bei den Ratten mit autoptisch gesicherter Steinbildung ein völlig negatives Resultat. Hieraus geht hervor, daß die Eubasinsteine strahlendurchlässig sind, mithin röntgenologisch nicht diagnostiziert werden können.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Auf Grund unserer an 52 Ratten durchgeführten Untersuchungen steht fest, daß von den geprüften Sulfonamiden nur das Eubasin in den angegebenen Dosen Steinbildung in den Harnorganen hervorruft, während durch Marfanil, Prontosil rubrum, Tibatin und Albucid bei gleicher Versuchsanordnung keine Urolithiasis erzeugt wird. Weder die Höhe der Dosierung noch die Verabreichungsdauer des Eubasins spielt für die Steinbildung eine entscheidende Rolle, da Eubasinkonkremente sich sowohl bei hoher als auch bei niedriger Dosierung bzw. bei kurz- oder langdauernder Verabreichung bilden können. Von wesentlicher Bedeutung ist einzig und allein der chemische Charakter des Sulfonamidpräparates, insofern als Substanzen aus der Sulfanilamidreihe (z. B. Eubasin) eine ausgesprochene Tendenz zur Steinbildung in den Harnwegen haben (vgl. auch Vonkennel). Nur auf diese Weise finden die verschiedenen Literaturangaben ihre Erklärung. Während nämlich manche Autoren (Hegglin, Antopol und Robinson) Urolithiasis bei hoher Dosierung festgestellt haben, betont Trachsler, bei niedriger Dosierung niemals Steinbildung

gesehen zu haben. Enger, Arnett und Miescher haben schließlich die Entstehung von Steinen bei üblicher Dosierung beobachtet. Hieraus kann also die Schlußfolgerung gezogen werden, daß die Konkrementbildung in den Harnorganen nach Eubasingaben weder mit der Höhe der Dosierung noch mit der Anwendungsdauer in Beziehung zu setzen ist, sondern offenbar nur von der chemischen Struktur dieses Sulfonamidpräparates abhängig ist.

In unseren Eubasinversuchen zeigen die meist linsengroßen Steine ein etwas gelbliches Aussehen, sie sind sehr rauh und körnig, aber nicht nadelförmig. Die Steine, die meist in großer Anzahl vorhanden sind, können fast das ganze Nierenbecken ausfüllen, wobei auch die Niere in toto vergrößert ist. Gelegentlich kann man sogar im Nierenparenchym, besonders auf der Schnittfläche, sehr kleine, makroskopisch eben noch sichtbare Konkremente finden. Manchmal können die Steinbildungen die Ureterenlumina verlegen, in anderen Fällen wiederum hängen sie an der Wand der Harnleiter. Die Schleimhaut selbst ist in der Regel stark hämorrhagisch verändert, bisweilen sogar lädiert. Es wird oft blutiger Harn entleert. Selbstverständlich kann auch die Harnblase Konkrementbildungen aufweisen. Abschließend stellen wir also fest, daß die Eubasinsteine in gleichem Ausmaße sowohl im Nierenparenchym und Nierenbecken als auch in den Harnleitern und in der Harnblase angetroffen werden, sie können aber auch gleichzeitig in sämtlichen Harnorganen vorkommen.

Antopol und Robinson haben bei Kaninchen mit großer Regelmäßigkeit nach oraler Sulfapyridinzufuhr Steinbildungen beobachtet. Im Gegensatz hierzu haben wir selbst unter 10 Tieren autoptisch nur 7mal, d. h. also in 70%, Konkrementbildungen in den Harnwegen festgestellt. Bemerkenswert ist aber, daß die 3 Ratten ohne Steinbildung dieselben objektiven Symptome (Gewichtsabnahme, Körperverfall, Hämaturie, typische Kristalle im Urinsediment) aufweisen und auch unter urämieähnlichen Zeichen zugrunde gehen.

Die von klinischer Seite (Huber, Tsao und Mitarbeiter, Grünig, Hegglin) gelegentlich beschriebene Anurie wird in unseren Rattenversuchen nicht beobachtet, nur bei einem Tier mit enormer Steinbildung in den Harnorganen findet sich eine, wenn auch nicht sehr ausgesprochene Oligurie. Auf sonstige Harnveränderungen (Menge, spezifisches Gewicht, Eiweiß und Sediment), Nierenfunktionsproben (Harnsäurebestimmung) und histologische Untersuchungen soll demnächst in einer anderen Arbeit eingegangen werden. Das Körpergewicht der Eubasintiere zeigt schließlich eine deutliche Tendenz zur Abnahme (durchschnittlich um 27 g gegenüber 8 g bei den Kontrollen).

Die Frage, ob Sulfapyridinsteine röntgenologisch dargestellt werden können, wird im Schriftum verschieden beantwortet. Negativen Berichten (Huber) stehen positive Feststellungen gegenüber (Antopol

und Robinson). Auf Grund unserer tierexperimentellen Untersuchungen kann als sicher gelten, daß Eubasinsteine strahlendurchlässig sind, mithin sich röntgenologisch nicht darstellen lassen.

Was den Entstehungsmechanismus der Steinbildung nach Eubasinzufuhr betrifft, so ist seit langem bekannt, daß aromatische Amine im Säugetierkörper azetyliert werden. Nach Verabreichung von Sulfanilamid tritt also im Blut und Urin ein hydrolysierbares Kuppelungsprodukt auf, welches sich als die azetylierte Verbindung erweist. Diese im Körper gebildeten Azetylierungsprodukte sind im großen und ganzen weniger löslich als die Sulfonamide selbst (Heubner). Es steht nun auf Grund unserer Untersuchungen fest, daß das Sulfapyridin (Eubasin) in seiner freien und azetylierten Form die am schlechtesten lösliche Verbindung ist, so daß es im wichtigsten Ausscheidungstraktus, den Harnwegen, zum Auskristallisieren kommt. Im Rattenversuch treten auch nach längerer Cibazolverabreichung schwere Nierenaffektionen auf, veranlaßt durch reichliche Abscheidungen von Azetylderivat in den Nieren- und Harnkanälchen (v. Restorff). Wenn unsere Vergleichsuntersuchungen mit Marfanil, Prontosil, Tibatin und Albucid keine Konkrementbildung in den Harnorganen ergeben haben, so ist diese Tatsache offenbar darauf zurückzuführen, daß der vom Organismus azetylierte Anteil dieser Sulfanilamidsubstanzen prozentual sehr gering und vor allem wesentlich leichter löslich ist als die Azetylverbindung des Eubasins. Die Bedeutung dieser am Tier gewonnenen Ergebnisse für das ärztliche Handeln am Krankenbett ist offenkundig, seitdem sich im Schrifttum die Mitteilungen über die besonders durch die Azetylsulfanilamide (z. B. Eubasin) ausgelösten, oftmals nicht unbedenklichen Nierenschädigungen (Albuminurie, mikroskopische und makroskopische Hämaturie, Nierenkoliken, Oligurie, Anurie, Urämie) häufen. Nach den grundlegenden Untersuchungen von Vonkennel ist die therapeutische Sulfanilamidanwendung am besten immer mit einer Alkalisierung des Urins zu verbinden.

Zusammenfassung.

1. Orale Eubasingaben rufen in den angegebenen Dosen bei Ratten in etwa 70% Steinbildung in den Harnwegen (Nierenparenchym, Nierenbecken, Harnleiter, Harnblase) hervor, während nach oraler Verabreichung von Marfanil, Prontosil, Tibatin und Albucid keine Urolithiasis auftritt.

2. Die Steinbildung in den Harnorganen nach Eubasinzufuhr ist unabhängig von der Höhe der Dosierung und von der Anwendungsdauer.

3. Die Eubasinkonkremente sind röntgenologisch nicht darstellbar.

4. Es wird der Mechanismus erörtert, der die Steinbildung nach Eubasinzufuhr bedingt.

Literatur.

1) Antopol, W., u. H. Robinson: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **40**, 428 (1939); Arch. of Path. (Am.) **29**, 67 (1940). — 2) Arnett, J. H.: J. amer. med. Assoc. **115**, 362 (1940). — 3) Bechgaard, P., u. E. Vermehren: Nord. med. Tskr. (Schwd.) **1941**, S. 3062. — 4) Domagk, G., u. C. Hegler: Chemotherapie bakterieller Infektionen. Leipzig, S. Hirzel, 1942. — 5) Druey, J., u. R. Meier: Schweiz. med. Wschr. **1942**, S. 316. — 6) Enger, R.: Dtsch. med. Wschr. **1940**, S. 1292. — 7) Graham, D., W. P. Warner, J. A. Dauphinée u. R. C. Dickson: Canad. med. Assoc. J. **40**, 325 (1939). — 8) Grünig, E.: Med. Klin. **1938**, II, S. 1399. — 9) Gsell, O.: Schweiz. med. Wschr. **1940**, I, S. 342. — 10) Hegglin, R.: Die Chemotherapie der Pneumonien. Leipzig, G. Thieme, 1942. — 11) Heubner, W.: Dtsch. med. Wschr. **1943**, S. 385. — 12) Huber, W.: Schweiz. med. Wschr. **1940**, S. 884. — 13) Loewenberg, S. A., N. G. Sloane u. P. Chodoff: J. amer. med. Assoc. **115**, 2069 (1940). — 14) Miescher, G.: Schweiz. med. Wschr. **1940**, S. 621. — 15) Pepper, D. S., H. F. Flippin, L. Schwartz u. J. S. Lock wood: Amer. J. med. Sci. **198**, 22 (1939). — 16) Pepper, D. S., u. G. C. Ham: Ebenda **200**, 784 (1940). — 17) Rake, G., H. B. van Dyke u. W. C. Corwin: Amer. J. med. Sci. **200**, 353 (1940). — 18) Restorff, H. v.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **200**, 195 (1942). — 19) Sjövall, B., u. St. Lindgren: Nord. med. Tskr. (Schwd.) **1942**, S. 1330. — 20) Trachsler, W.: Schweiz. med. Wschr. **1940**. S. 781. — 21) Tsao, Y. F., M. E. Mc Cracken, J. Chen, P. T. Kuo u. C. L. Dale: J. amer. med. Assoc. **113**, 1316 (1939). — 22) Vondra, N.: Z. Ur, **33**, 424 (1939). — 23) Vonkennel, J.: Dtsch. med. Wschr. **1942**, S. 953 und 985.

Aus dem Psychologischen Institut der Universität Berlin.

Psychopharmakologische Untersuchungen über die Wirkung von Keimdrüsenhormonen auf die geistige Leistungsfähigkeit.

Von

Heinrich Düker.

Mit 16 Textabbildungen.

(Eingegangen am 27. März 1943.)

I. Einführung in die Fragestellung.

In der Literatur über die Therapie mit Keimdrüsenhormonen sind sehr häufig Fälle beschrieben worden, in denen neben der Behebung organischer und funktioneller Störungen bei den Patienten auch eine Verbesserung des psychischen Zustandes eintrat[1]. So wurde z. B. bei Männern mit der Behebung der Impotenz gleichzeitig eine Steigerung der geistigen Leistungsfähigkeit erreicht. Dasselbe zeigte sich auch bei Frauen, wenn Menstruations- oder klimakterische Beschwerden behoben waren.

Auf Grund derartiger Beobachtungen, die in großer Zahl gemacht worden sind, kann man annehmen, daß eine Wechselbeziehung besteht zwischen der Keimdrüsenfunktion und bestimmten psychischen Vorgängen. So beobachtete man (Venzmer, Veil und Lipproß, Arndt u. a.) bei Keimdrüsenstörungen herabgesetzte Konzentrationsfähigkeit, rasche Ermüdbarkeit, Nachlassen des Gedächtnisses, leichte Erregbarkeit, Arbeitsunlust, mangelnde Initiative, in schwereren Fällen auch Minderwertigkeitsgefühle und Depressionszustände. Kürzer ausgedrückt würde das bedeuten, daß bei mangelhafter Keimdrüsenfunktion die Leistungsfähigkeit des Individuums herabgesetzt sein kann. Wahrscheinlich ist die Verminderung der Leistungsfähigkeit um so größer, je mangelhafter die Keimdrüsen funktionieren; vorausgesetzt natürlich, daß die Leistungsherabsetzung ihre Ursache in einer Keimdrüsenstörung hat.

Die von den Autoren beschriebenen Fälle waren fast durchweg solche, in denen organische Defekte bzw. Funktionsstörungen mit ziemlicher Sicherheit erkennbar waren. So braucht es aber nicht immer zu sein. Es sind durchaus Fälle möglich, in denen vorhandene organische oder funk-

[1] v. Bergmann: Berl. Med. Ges., 6. Nov. 1935; Schittenhelm u. Bühler: Z. exper. Med. **1935**, S. 197; Steinach, Kun u. Peczenik: Wien. klin. Wschr. **1938**, Nr. 13; Henßge: Ärztl. Korr. **1927**, H. 21, S. 137; Veil u. Lipproß: Klin. Wschr. **1938**, S. 655; Lipproß: Münch. med. Wschr. **1938**, S. 1668; Venzmer: Dtsch. med. Wschr. **1937**, Nr. 37, S. 1402; Med. Welt **1938**, Nr. 36, S. 1278; Arndt: Wien. med. Wschr. **1939**, Nr. 9, S. 222 u. a.

tionelle Störungen nicht festzustellen sind, und zwar dann nicht, wenn diese Störungen erst einen so geringen Grad erreicht haben, daß sie mit den bisherigen klinischen Methoden noch nicht erfaßbar sind. Und doch können sich derartige geringe Störungen schon psychisch auswirken. So sind im gegenwärtigen Wirtschaftsleben, in dem die Arbeitskraft des einzelnen übernormal beansprucht wird und der Erholungsurlaub auf das Mindestmaß beschränkt werden muß, Menschen mit stark herabgesetzter Leistungsfähigkeit keine Seltenheit. Diese klagen z. T. über die gleichen Beschwerden, die Venzmer u. a. bei ihren Patienten als Alterserscheinungen feststellten: mangelnde Konzentrationsfähigkeit, Abgespanntheit, Nachlassen des Gedächtnisses, rasche Ermüdbarkeit, Arbeitsunlust, gedrückte Stimmung. Begeben sich diese Menschen, wenn die Beschwerden nicht nachlassen, in ärztliche Behandlung, so werden oft keine organischen bzw. funktionellen Störungen festgestellt, sondern lediglich ein durch Überarbeitung hervorgerufener Erschöpfungszustand. Der in vielen Fällen verordnete Erholungsurlaub von einigen Wochen beseitigt diesen Zustand meistens nur vorübergehend. Werden die Patienten danach in ihren bisherigen Arbeitsprozeß wieder voll eingespannt, so treten die früheren Beschwerden nach kurzer Zeit wieder auf.

Es liegt nahe anzunehmen, daß auch hier gewisse organische bzw. funktionelle Störungen des inkretorischen Systems vorliegen oder sich erst anbahnen, die zwar wegen ihres zunächst noch geringen Grades nicht erkennbar sind, wegen ihrer psychischen Auswirkungen aber vermutet werden können.

Hiergegen kann eingewandt werden, daß die in Betracht kommenden Beschwerden nicht immer organisch bzw. funktionell bedingt zu sein brauchen, sie können auch einen psychischen Ursprung haben.

Das ist durchaus möglich. Aber auch in diesem Fall muß mit einer Rückwirkung auf bestimmte Organe oder körperliche Funktionen gerechnet werden, wenn man die Wechselwirkung zwischen Psychischem und Physischem voraussetzt. Tatsächlich nimmt man ja auch bei psychischen Erkrankungen organische Korrelate an. Das ist schon aus der Tatsache zu erkennen, daß man bei psychischen Störungen nicht immer bloß psycho-therapeutisch vorgeht, sondern auch Medikamente verordnet, also versucht, auf bestimmte Organe bzw. Funktionen einzuwirken.

Von diesem Gesichtspunkt aus ist die vorliegende Untersuchung durchgeführt worden. Uns sollten in erster Linie Personen beschäftigen, bei denen sogenannte psychische Erschöpfungszustände vorlagen, bei denen aber organische bzw. funktionelle Störungen gar nicht oder nur in sehr geringem Grad festzustellen waren.

Für unsere Versuche kamen deshalb hauptsächlich nur solche Personen in Betracht, deren berufliche Leistungsfähigkeit stark herabgesetzt war und die über die eingangs erwähnten Beschwerden klagten.

Gestützt auf die vorstehenden Erörterungen vermuteten wir auch bei diesen Menschen Störungen des innersekretorischen Systems, insbesondere der Keimdrüsenfunktionen, Störungen, die aber klinisch nicht feststellbar waren, weil sie noch nicht den hierfür notwendigen Grad erreicht hatten, wie z. B. bei den Patienten von Venzmer, Lipproß, Arndt u. a. Daher verwandten wir zur Beeinflussung der Leistungsfähigkeit ebenfalls Keimdrüsenhormone und zwar die synthetischen Präparate Testoviron und Progynon. Zur Anwendung dieser Präparate führte uns die Vermutung, daß dieselben u. U. einen noch größeren „unspezifischen" Wirkungsbereich haben könnten, als er bislang von verschiedenen Autoren festgestellt worden ist.

Was die Dosierung anbelangt, so glaubten wir entsprechend unserer Annahme, daß es sich bei den für unsere Versuche in Betracht kommenden Personen um einen sehr geringen Grad der Störungen handle, mit möglichst kleinen Dosen auszukommen. Darum schied die Injektion der Präparate ganz aus. Wir verwandten lediglich Testoviron- und Progynontropfen.

Es kam in unseren Untersuchungen nicht nur darauf an festzustellen, ob Keimdrüsenhormone bei herabgesetzter Leistungsfähigkeit mit Erfolg angewandt werden können oder nicht. Das ist in verschiedenen Fällen schon von anderen Autoren (Venzmer, Veil, Lipproß u. a.) beobachtet worden. Es sollte vielmehr versucht werden, zu Ergebnissen zu kommen, die über die klinischen Beobachtungen hinausführten. Wir wollten uns nicht allein auf die Beobachtung des äußeren Zustandes und auf die Aussagen der Vpn. über ihr Befinden beschränken, wissen wir doch, wie sehr solche Aussagen von der jeweiligen Stimmung abhängig sind, und daß diese Angaben deshalb mit Vorsicht zu bewerten sind. Objektive Bedeutung haben solche Aussagen meistens erst dann, wenn sie durch quantitative Ergebnisse gestützt werden. Darum kam es uns vor allem auf zahlenmäßige Feststellungen an.

Wir haben demnach in diesen Untersuchungen folgende Fragen zu entscheiden:

1. Wird herabgesetzte geistige Leistungsfähigkeit durch kleine Dosen Keimdrüsenhormon günstig beeinflußt?
2. Wenn eine günstige Beeinflussung stattfindet, ist diese dann zeitlich begrenzt, oder besteht die Möglichkeit eines Dauererfolgs?

II. Die Versuchsmethode.

Um das im vorhergehenden aufgezeigte Ziel dieser Untersuchungen zu erreichen, mußte das Versuchsverfahren so beschaffen sein, daß der für die geistige Leistungsfähigkeit wesentliche psychische Tatbestand erfaßt wurde. Das ist zweifellos die Konzentrationsfähigkeit. Unter Konzentration verstehen wir die Fähigkeit, die zur Erreichung eines bestimmten Zweckes erforderlichen psychischen Funktionen zusammen-

zufassen. Ohne Konzentration ist überhaupt keine Leistung möglich, weder eine rein psychische noch eine körperliche. Es handelte sich also darum, Feststellungen über die Konzentrationsfähigkeit zu machen.

Die Konzentration ist eine willkürliche Betätigung. Sie erfordert eine um so stärkere Willensanspannung, je schwieriger es ist, die für die Erreichung des gesetzten Zweckes in Betracht kommenden psychischen Funktionen zusammenzufassen. Das ist u. a. der Fall, wenn man sich im ermüdeten und abgespannten Zustand befindet. Wir können diese Tatsache an uns selber, immer wieder beobachten. Je abgespannter wir sind, desto schwieriger ist die Durchführung einer zielgerichteten Tätigkeit, eine um so stärkere Willensanspannung erfordert sie.

Daher können sich Personen im frischen und unverbrauchten Zustand unter sonst gleichen Bedingungen leichter und länger auf eine Tätigkeit konzentrieren und sind infolgedessen leistungsfähiger als solche, die abgespannt sind. Die Leistungsfähigkeit eines Menschen ist also davon abhängig, in welchem Grade und wie lange er imstande ist, sich auf eine Tätigkeit zu konzentrieren. Die Arbeitsleistung ist demnach ein Gradmesser für die Leistungsfähigkeit.

Die Tatsache, daß sich manche Menschen trotz guten Nachtschlafes nach dem Aufstehen nicht so gut konzentrieren können wie einige Stunden später, ist darauf zurückzuführen, daß die Nachtruhe länger als gewöhnlich nachwirkt und diese Trägheit erst allmählich überwunden werden muß.

Da es in den vorliegenden Untersuchungen darauf ankam, Feststellungen über die Leistungsfähigkeit zu machen, war es nötig, eine Tätigkeit ausführen zu lassen, die diese gut hervortreten ließ. Dies erreichten wir dadurch, daß die Vpn.[1] fortlaufend Rechenleistungen auszuführen hatten. Das Rechnen bestand im Addieren und Subtrahieren einstelliger Zahlen. In jeder Aufgabe waren an drei einstelligen Zahlen zwei Rechenoperationen vorzunehmen und zwar derart, daß entweder die beiden ersten Zahlen addiert und von deren Summe die dritte subtrahiert werden mußte ($9 + 6 - 8$), oder es war von der ersten Zahl die zweite zu subtrahieren und zu der Differenz die dritte zu addieren ($8 - 3 + 6$), oder alle drei Zahlen mußten addiert werden ($4 + 3 + 5$), oder von der ersten war die zweite zu subtrahieren und von der Differenz die dritte ($9 - 3 - 5$). Die Aufgaben wurden nicht in regelmäßiger Reihenfolge dargeboten, sondern in buntem Wechsel, so daß sich die Vpn. nicht auf einen bestimmten Ablauf der Rechentätigkeit einstellen konnten.

Wie eingehende Vorversuche gezeigt haben, stellt eine derartige Tätigkeit hohe Anforderungen an die Konzentrationsfähigkeit, besonders wenn die Arbeit längere Zeit durchgeführt wird.

Die beschriebene Tätigkeit ist nur in den ersten VRn. verwendet worden. Im Verlauf der Versuche stellte es sich heraus, daß der zu untersuchende Tatbestand noch stärker hervortrat, wenn die Tätigkeit erheblich erschwert wurde. Die Erschwerung wurde dadurch erreicht, daß statt einer Aufgabe zwei gleichzeitig dargeboten wurden ($5 + 7 - 4$ und $8 - 5 + 9$), und zwar stand die zweite Aufgabe unter der ersten. Die Vpn. hatten zunächst die erste Aufgabe zu rechnen und sich das Ergebnis zu merken, darauf folgte die Lösung der zweiten

[1] Im folgenden werden nachstehende Abkürzungen gebraucht: Vp. (n) = Versuchsperson (en), Vl = Versuchsleiter, VT. (e) = Versuchstag (e), VR. (n) = Versuchsreihe (n).

Aufgabe. War das geschehen, so mußte das kleinere Ergebnis von dem größeren subtrahiert werden. Die Aufgaben waren so zusammengestellt, daß das größere Ergebnis nicht immer bei der ersten vorkam.

Diese Tätigkeit stellte noch weit höhere Anforderungen an die Konzentrationsfähigkeit als die andere, besonders dadurch, daß das Ergebnis der ersten Aufgabe behalten werden mußte, während die zweite gerechnet wurde. Im abgespannten Zustand ist dies außerordentlich schwierig, sehr oft wird beim Rechnen der zweiten Aufgabe das Ergebnis der ersten vergessen, so daß mit dem Rechnen von neuem begonnen werden muß.

Im folgenden bezeichnen wir die zuerst beschriebene Versuchstätigkeit, bei der nur eine Rechenaufgabe dargeboten wurde, kurz mit R_1, die andere, bei der zwei Aufgaben geboten wurden, mit R_2.

Die Aufgaben waren mit der Schreibmaschine auf einen besonders präparierten Film geschrieben und wurden durch einen hierfür konstruierten Apparat dargeboten. Die Vp. saß vor einem Opalglasschirm, auf dessen Rückseite die Aufgaben im Spiegelbild projiziert wurden, so daß sie von der Vorderseite im normalen Bild abgelesen werden konnten. Die Größe der projizierten Bilder betrug 15×12 cm. Die Ergebnisse mußten laut ausgesprochen werden, damit der Vl. ihre Richtigkeit kontrollieren konnte. Die Auslösung der einzelnen Projektionen geschah durch einen Druckschalter, den die Vpn. in der Hand hielt. Hatte sie die dargebotene Aufgabe gelöst, so genügte ein leichter Druck, um eine neue erscheinen zu lassen.

Um dem Vorstellungstyp der Vp. Rechnung zu tragen, war es ihnen anheimgestellt, die ganze Rechentätigkeit laut auszuführen oder nur das Endergebnis auszusprechen.

Den Vpn. wurde zu Beginn der VR. gesagt, daß es notwendig sei, alle Kräfte anzuspannen und so schnell und so richtig wie möglich zu rechnen (um eine in quantitativer und qualitativer Hinsicht möglichst gute Leistung zu erreichen).

Die VRn., die mit den einzelnen Vpn. durchgeführt wurden, waren den gegebenen Umständen entsprechend von verschieden langer Dauer. Die kürzesten VRn. erstreckten sich über ungefähr 3 Wochen, die längsten dauerten über $1^1/_2$ Jahre.

Was die Versuchsdauer an den einzelnen VTn. anbelangt, so ist zunächst versucht worden, so lange rechnen zu lassen, bis die Vpn. erklärten, sie könnten nicht mehr. Erfahrungsgemäß verausgabt sich der Mensch aber nur selten ganz. Das zeigte sich auch bei manchen Vpn., die schon nach 18—25 Minuten behaupteten, nicht mehr weiterrechnen zu können. Doch gelang es meistens durch Zureden, sie zu bewegen, wenigstens 30 Minuten durchzuhalten. Wir hielten es deshalb für zweckmäßig, die Versuchsdauer nicht den Vpn. zu überlassen, sondern sie während der ersten VTe. auf 30 Minuten festzusetzen und den Vpn. von vornherein zu sagen, daß sie diese Zeit durchhalten müßten. Die Versuchsdauer wurde nur dann verkürzt, wenn die Vpn. wirklich nicht imstande waren, die festgesetzte Zeit auszuhalten. Im Laufe der VR., wenn durch Übungsfortschritt oder andere günstig wirkende Faktoren die Vpn. leistungsfähiger geworden waren, wurde die Versuchszeit entsprechend verlängert.

Die Versuche wurden mit Personen durchgeführt, bei denen ein organisch krankhafter Befund möglichst nicht vorlag, sondern die hauptsächlich über stark herabgesetzte Leistungsfähigkeit klagten. Es waren dies teils Soldaten eines Reservelazaretts, größtenteils aber Berufstätige: Bankangestellte, kaufmännische und technische Angestellte, Stenotypistinnen, Hollerithlocherinnen u. ä. Berufe, ferner Rentner und Arbeiterinnen. Ein Teil dieser Personen ist von Ärzten überwiesen worden. Bei den Nichtüberwiesenen wurde meistens ein ärztlicher Befund eingeholt.

Hinsichtlich der Durchführung der einzelnen VRn. wurde möglichst die gleiche Tageszeit innegehalten. Mit den Berufstätigen fanden die Versuche fast durchweg nach der Berufsarbeit statt.

Zu Beginn der VRn. erhielten die Vpn. ein Leerpräparat. Dieses bestand aus alkoholischer Lösung in der gleichen Konzentration wie die verabreichten Hormonpräparate. Da diese geruch- und geschmacklos sind, war es für die Vpn. unmöglich, einen Unterschied zwischen den hormonfreien und Hormonpräparaten festzustellen. Auch hinsichtlich der äußeren Aufmachung waren beide nicht voneinander zu unterscheiden.

Das Leerpräparat wurde solange gegeben, bis die Übung der Vpn. ihren Höhepunkt erreicht hatte. Dann wurde das eigentliche Präparat verabreicht. Männer erhielten Testoviron *T* (Schering), eine alkoholische Lösung, die in 10 ccm 96%igen Alkohols 50 mg Testosteron enthält und percutan (durch Einreiben in die Ellenbeuge) angewandt wurde. Frauen bekamen Progynon und zwar in Form von Progynontropfen stark, d. i. eine 50%ige alkoholische Lösung, die in 20 ccm 15 mg Östradiol enthält und perlingual zu nehmen ist. Um jeden Schluckakt zu vermeiden, sind die Vpn. angewiesen worden, auf einmal niemals mehr als 5 Tropfen auf die Zunge zu nehmen.

Im Verlauf der VRn. mußte sich nun zeigen, ob und wie die verabreichten Präparate wirkten.

Die Wirkung mußte sich einmal in der Leistung kundtun, zum andern gab das Verhalten der Vpn. während der Tätigkeit Anhaltspunkte dafür, ob die Leistung mit sehr starker oder weniger starker Willensanspannung erreicht wurde. Schließlich waren auch die Aussagen der Vpn. im Zusammenhang mit den zahlenmäßigen Ergebnissen nicht ohne Bedeutung.

III. Versuchsreihen über die Wirkung kleiner Dosen Keimdrüsenhormon auf die geistige Leistungsfähigkeit.

A. Versuchsreihen von kurzer Dauer mit täglicher Leistungskontrolle.

Zunächst wurden die Versuche so durchgeführt, daß die Leistungsfähigkeit täglich festgestellt wurde. Dies geschah hauptsächlich, um die Vpn. möglichst schnell den Übungshöhepunkt erreichen zu lassen. Dann lag uns auch daran zu beobachten, nach welcher Zeit die Wirkung der Präparate sich bemerkbar machte.

Die täglich applizierte Dosis, Leerpräparat sowohl wie Testoviron, wurde auf Morgen, Mittag und Abend möglichst gleichmäßig verteilt.

1. Versuchsreihe 1.

Dauer 3 Wochen; Versuchstätigkeit R_1; Dosis 4 mg Testoviron.

R. R., asthenischer Körperbau von kaum mittlerer Größe, 32 Jahre, Kanonier in einem Flak-Regiment, von Beruf Arbeiter, vor Jahren Tbc., jetzt geschlossen, wegen Bronchitis dem Lazarett überwiesen. Obwohl die Bronchitis ausgeheilt war und sonst ein krankhafter Befund nicht vorlag, klagte R. über körperliche und geistige Abgespanntheit und dauernde Müdigkeit.

Die zahlenmäßigen Ergebnisse dieser VR. sind in Abb. 1 dargestellt. Sie zeigen, daß bis zum 8. VT. bei R. ein Übungsfortschritt kaum in Er-

scheinung trat. Diese Tatsache läßt auf einen starken Erschöpfungszustand bei R. schließen. Das ging auch aus seinem Verhalten während der Tätigkeit hervor. Es fiel ihm schwer, die festgesetzte Versuchszeit durchzuhalten, besonders als am 3. VT. diese um 15 Minuten verlängert worden war. Nach Beendigung des 1. VT. erklärte er: „Früher wurde ich mit solchen Aufgaben sehr leicht fertig, jetzt aber machen sie mir große Schwierigkeiten." Ähnlich äußerte er sich auch an den folgenden VT. Am 6. VT. mußte die Tätigkeit nach 35 Minuten abgebrochen werden, da R. nicht mehr weiterzurechnen vermochte. Auch der hohe Fehlerprozentsatz spricht für die geringe Leistungsfähigkeit des R. an diesem VT.

Vom 8. VT. an, einem Sonnabend, wurde das richtige Präparat verabreicht. Der nächste Versuch fand am darauffolgenden 3. Tage statt, da

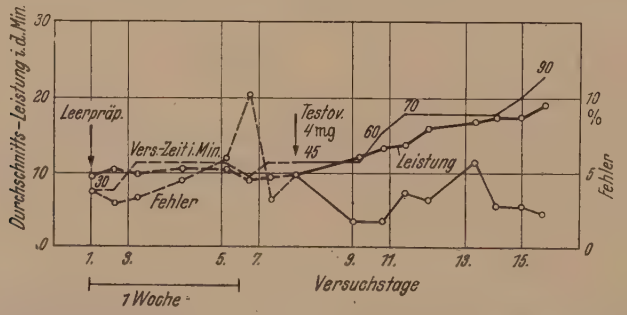


Abb. 1[1]. Durchschnittliche Leistung während VR. 1. Vp. R. R., 32jähriger Mann. Leistungsverlauf bei Anwendung von Leerpräparat — — — —, von täglich 4 mg Testoviron ————. Die Leistungskontrollen fanden täglich statt.

es besonderer Umstände halber nicht eher möglich war. Von diesem Tage an (9. VT.) war ein ständiges Ansteigen der Leistung zu beobachten. Nach dem Versuch am 9. VT. sagte R., heute sei ihm das Rechnen leichter gefallen als bisher. Infolgedessen wurde am 10. VT. die Versuchsdauer auf 60 Minuten erhöht. Diese und ebenso die weiteren Verlängerungen der Versuchszeit im weiteren Verlauf der VR. wurden ohne auffallende Schwierigkeiten durchgehalten. Das von Tag zu Tag schneller werdende Arbeitstempo stellte auch R. stets mit großer Befriedigung fest. Besonders erfreut war er über das Ergebnis des 16. VT.

Nachdem R. das Präparat ungefähr 10 Tage angewandt hatte, behauptete er, sein Schlafbedürfnis sei geringer geworden. Beim Wecken

[1] In dieser und den folgenden Abbildungen sind jedesmal zwei Diagramme zusammengefaßt; das eine zeigt die Leistung, das andere die gemachten Fehler. Auf der linken Senkrechten ist die durchschnittliche Anzahl der in der Minute gerechneten Aufgaben, auf der rechten der Prozentsatz der falschen Lösungen und auf der Waagerechten die zeitliche Aufeinanderfolge der Leistungskontrollen abgetragen. Die zu einer Leistungskontrolle gehörenden Versuchstage sind angegeben. Außerdem ist in jede Abbildung die jeweilige Versuchszeit (in Minuten) eingetragen.

morgens könne er ohne Schwierigkeit aufstehen und habe nicht mehr das Gefühl, nicht ausgeschlafen zu haben, was er bis dahin immer gehabt hätte. Auch sonst fühle er sich frischer und sei nach längeren Spaziergängen nicht mehr abgespannt.

2. Versuchsreihe 2.

Dauer $2^1/_2$ Wochen; Versuchstätigkeit R_1; Dosis 4 mg Testoviron.

A. P., 29 Jahre, Funker in einer Luftnachrichtenkompanie, Abiturient, gelernter Koch, zuletzt Geschäftsführer eines Hotelbetriebes; kräftiger, athletisch-

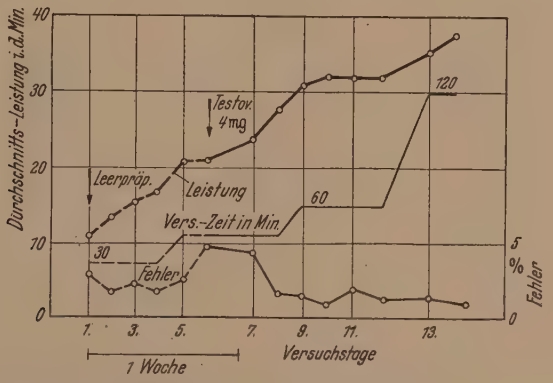


Abb. 2. Durchschnittliche Leistung während VR. 2. Dauer der VR. $2^1/_2$ Wochen. Vp. A. P., 29jähriger Mann. Leistungsverlauf bei Anwendung von Leerpräparat — — — —, von täglich 4 mg Testoviron ————. Die Leistungskontrollen fanden täglich statt.

leptosomer Körperbau; wegen Verdachts auf Tbc. dem Lazarett zur Beobachtung überwiesen. Diese ergab negativen Befund, lediglich bronchitische Geräusche wurden in der Lunge festgestellt, die nach einigen Wochen behoben waren. Sonst lag ein krankhafter Befund nicht vor. P. klagte über körperliche Schlappheit, fühlte sich dauernd abgespannt, konnte Tag und Nacht schlafen. Bei der Truppe schlief er oft am Funkgerät ein. Wegen dieses Zustandes war er sehr gedrückter Stimmung.

War im Verlauf der vorhergehenden VR. ohne Testoviron ein Übungsfortschritt nicht festzustellen, so ließen die Ergebnisse der VR. 2 diesen deutlich erkennen.

Noch stärker aber war der Leistungsanstieg unter der Wirkung des Präparates. Der gleiche Anstieg, der vom 1.—6. VT. erreicht wurde, konnte mit Testoviron bereits in den drei folgenden VTn. erzielt werden.

Stützt man sich bei der Beurteilung der Testoviron-Wirkung lediglich auf die Leistungskurve, so ist jene Wirkung hieraus eindeutig zu erkennen. Deutlicher aber wird sie, wenn man zur Beurteilung noch die Zeitkurve heranzieht. Sie zeigt, daß in der zweiten Hälfte der VR. die Versuchsdauer im Vergleich zur ersten um das Zweieinhalbfache verlängert werden konnte. Dies fällt besonders schwer ins Gewicht, wenn man bedenkt, daß mit der Dauer der Tätigkeit die Schwierigkeit ihrer Durchführung wächst.

Während der ersten VTe. war das Rechnen für P. so anstrengend, daß er nach jedem Versuch Bettruhe nötig hatte. Er verausgabte sich so sehr, daß er nach dem Rechnen über Benommenheit und Kopfschmerzen klagte. Es kam sogar vor, daß durch die starke Anstrengung der Nachtschlaf — die Versuche fanden nachmittags statt — beeinträchtigt wurde.

Durch diese Versuche erkannte P. noch klarer als vorher, wie stark seine Leistungsfähigkeit gemindert war. Diese Erkenntnis verschlechterte seine gedrückte Stimmung noch mehr, so daß er eines Tages erklärte, wenn das so weiter ginge, hätte er keine Lust mehr am Leben, da er den Anforderungen, die jetzt bei der Truppe und später in seinem Beruf an ihn gestellt würden, nicht mehr gewachsen sei.

Die fortschreitende Übung ließ die Anstrengung nach den ersten VTn. etwas zurückgehen. Doch war eine auffallende Erleichterung erst zu beobachten, nachdem P. das Testoviron 3 Tage angewandt hatte. Nach dem 8. VT. behauptete er: „Heute hat es mich weniger angestrengt. Ich bin auch nicht mehr so benebelt wie bisher. Ich hätte noch weiter rechnen können". Daraufhin wurde die Versuchszeit am 9. VT. um 15 Minuten verlängert. An diesem und den folgenden VTn. wurde das Rechnen ohne große Schwierigkeiten geschafft. Nach dem 12. VT. erklärte P.: „Heute hat mir das Rechnen nicht viel ausgemacht, ich hätte noch viel länger rechnen können." Nun wurde am 13. VT. die Versuchszeit gleich auf 120 Minuten, also auf das Zweifache der bisherigen Höchstdauer, verlängert. Auch diese lange Zeit hielt P. gut durch. Am Schluß dieses VT. sagte er: „Ich fühle mich heute nicht so angestrengt wie früher nach der kurzen Zeit. Die Tropfen haben mir sehr geholfen; denn ich fühle mich nun wieder frisch und leistungsfähig. Auffallend ist, daß ich jetzt morgens beim Wecken vollkommen ausgeschlafen bin, während ich früher nicht wach werden konnte und für jede Minute dankbar war, die ich länger schlafen durfte. Auch am Tage bin ich nicht mehr müde. Ich bin sehr froh über diese Besserung meines Zustandes."

Leider mußte die VR. abgebrochen werden, da P. zu seiner Kompanie entlassen wurde. Nach ungefähr 2 Monaten schrieb er von seinem Truppenteil, daß die Hormontherapie sich weiter sehr günstig ausgewirkt habe und er sich gesundheitlich in jeder Hinsicht auf der Höhe fühle.

Wenn auch aus den Gesamtergebnissen der VRn. 1 und 2 auf eine günstige Beeinflussung der geistigen Leistungsfähigkeit durch Testoviron geschlossen werden kann, so ist es doch ein Nachteil dieser VRn., daß diese Wirkung aus den Leistungskurven allein nicht deutlich genug hervorgeht. Die Versuche mit Leerpräparat hätten so lange durchgeführt werden müssen, bis der Übungshöhepunkt eindeutig erreicht gewesen wäre. Hierüber waren wir uns bereits zu Beginn dieser VRn. klar, doch war eine längere Ausdehnung der Versuche nicht möglich, da die Patienten nicht länger als irgend nötig im Lazarett zurückgehalten werden durften, so daß für die VRn. nur eine beschränkte Zeit zur Verfügung stand.

Aus diesem Grunde konnten auch über die Dauer der Testoviron-wirkung keine Feststellungen gemacht werden.

B. Lange Versuchsreihen, in denen die Leistungskontrollen anfangs täglich, später in größeren Zeitabständen stattfanden.

Die folgenden Versuchsreihen erstreckten sich über längere Zeit, die meisten über länger als 1 Jahr; denn es kam darauf an, auch über die Wirkungsdauer der angewandten Hormonpräparate Feststellungen zu machen.

Die ersten VRn. dieser Art unterschieden sich von den bisherigen hinsichtlich der Versuchstätigkeit nicht.

Die Versuche mit Leerpräparat sind länger als bislang durchgeführt worden, und zwar so lange, bis ein Leistungsanstieg nicht mehr festzustellen war. Erst dann wurde das eigentliche Präparat verabreicht.

Die Kontrolle der Leistungsfähigkeit fand täglich statt, sofern nicht besonderer Umstände wegen 1 oder 2 Tage übergangen werden mußten. Diese tägliche Kontrolle wurde so lange durchgeführt, bis auch unter der Wirkung des Präparates keine Leistungssteigerung zu beobachten war. Danach erfolgte die Kontrolle in größeren Zeitabständen, zunächst alle 3, dann alle 4 Wochen, im weiteren Verlauf der VRn. alle 6 oder 8 Wochen. Öftere Kontrollen erschienen uns zur Feststellung der Wirkungsdauer der Präparate nicht notwendig.

Die in größeren Zeitabständen vorgenommene Leistungskontrolle wurde an mindestens zwei aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführt. Während einiger VRn. lagen zwischen den einzelnen Kontrolltagen 1 oder 2 Tage. Nur in Ausnahmefällen, wenn die Umstände es erforderten, waren diese Abstände um einige Tage größer.

Die Versuchszeit betrug an den ersten VTn. 30 Minuten, wurde aber unter Berücksichtigung der Leistungsfähigkeit der Vpn. im Verlauf der VRn. allmählich bis auf 90 Minuten verlängert. Diese Zeit reichte für unseren Zweck vollkommen aus; denn es mußte in Betracht gezogen werden, daß die Vpn. bereits ihre anstrengende Berufsarbeit bzw. den größten Teil derselben hinter sich hatten, wenn sie mit den Versuchen begannen.

Nur in einem Fall ist die Versuchszeit auf 180 Minuten ausgedehnt worden. Das war aber nur deshalb möglich, weil die Vp. ihren Beruf nicht ausübte.

In den späteren VRn., in denen die Tätigkeit R_2 auszuführen war, die an die Konzentrationsfähigkeit besonders starke Anforderungen stellte, kamen wir mit 60 Minuten aus.

Im Laufe der Versuche stellte es sich heraus, daß bei langer Versuchsdauer manche Personen, besonders wenn sie laut rechneten, nach ungefähr 40 Minuten Schwierigkeiten beim Sprechen hatten und sich oft räusperten. In solchen Fällen wurde nach je 30 Minuten eine kurze Pause eingelegt, in der die Vpn. durch Kräutertee oder Wasser ihre Stimme wieder auffrischen konnten.

Was die Dosierung anbelangt, so versuchten wir, mit einer geringeren Menge als bisher eine Wirkung zu erreichen. In den ersten VRn. mußten täglich dreimal je 5 Tropfen Testoviron (Progynon) genommen werden, in den späteren VRn. 10 bzw. 8 Tropfen, die auf Morgen und Abend verteilt werden mußten.

Im folgenden soll zunächst eine VR. beschrieben werden, die mit jemand durchgeführt worden ist, der über keinerlei Beschwerden klagte, und der sich in seiner beruflichen Tätigkeit voll leistungsfähig fühlte. Es kam darauf an festzustellen, in welcher Weise sich die Hormonpräparate bei Personen mit normaler Leistungsfähigkeit auswirkten.

1. Versuchsreihe 3.

Dauer 11 Monate; Versuchstätigkeit R_1; Dosis 2,5 mg Testoviron.

A. M., 31 Jahre, Drogist (Abiturient), z. Z. Sanitäts-Obergefreiter in einem Reservelazarett. Großer, kräftiger Körperbau. Krankhafter Befund lag nicht vor. Klagen über irgendwelche Beschwerden bestanden nicht. Wohl fühlte M. sich zeitweise, wenn die Nachtwachen in zu kurzen Abständen aufeinanderfolgten, etwas abgespannt. Doch bewegte sich dies durchaus in normalen Grenzen. Eine störungsfreie Nacht genügte, um diese Abspannung zu beheben. Sein Dienst machte ihm keine besonderen Schwierigkeiten.

Abb. 3. Durchschnittliche Leistung während VR. 3. Dauer der VR. 11 Monate. Vp. A. M., 31jähriger Mann. Leistungsverlauf bei Anwendung von Leerpräparat — — —, von täglich 2,5 mg Testoviron ————. Die Leistungskontrollen fanden bis zum 31. VT. täglich, danach in größeren Zeitintervallen statt.

Die Versuche fanden statt, nachdem M. den größten Teil seines Dienstes hinter sich hatte.

Der Übungsfortschritt mit Leerpräparat war durchaus normal, d. h. wie er zu verlaufen pflegt bei Personen, die in ihrer Leistungsfähigkeit nicht geschädigt sind. Daß der Übungsfortschritt am 4. VT. geringer war als an den beiden vorhergehenden Tagen, und daß am 5. gar keine und am 6. VT. nur eine geringe Leistungssteigerung zu verzeichnen war, ist darauf zurückzuführen, daß M. vor dem 4. und 6. VT. Nachtdienst hatte. Vom 7.—9. VT. erfolgte wieder ein stetiger starker Leistungsanstieg. Am 10. VT. war der Übungshöhepunkt erreicht. Der verhältnismäßig starke Leistungsrückgang am 12. und 13. VT. wurde dadurch verursacht, daß M. an zwei aufeinanderfolgenden Tagen (11. und 12. VT.) Nachtdienst hatte[1].

[1] Die nachhaltige Wirkung des Nachtdienstes erklärt sich aus dem Umstand, daß zwischen diesem und dem darauffolgenden Tagesdienst keine Ruhezeit lag, der Tagesdienst folgte unmittelbar auf den Nachtdienst.

Während der Versuche mit Leerpräparat war die Rechentätigkeit für M. sehr anstrengend, besonders an den ersten VTn. und an denen, die auf Nachtdienst folgten. Verschiedentlich behauptete M. nach den Versuchen, er habe durch die starke Anstrengung Kopfschmerzen bekommen.

Als am 14. und 15. VT. eine Leistungssteigerung nicht mehr erfolgte, erhielt M. vom 15. VT. an täglich 2,5 mg-Testoviron. Daraufhin stieg die Leistung bis zum 18. VT. auffallend stark an. M. war über diese Beschleunigung seines Arbeitstempos selber erstaunt; denn er hatte geglaubt, seinen Leistungshöhepunkt längst erreicht zu haben.

Nach dem 18. VT. war im weiteren Verlauf der VR. nur noch ein unwesentlicher Leistungsanstieg zu beobachten. M. hatte also unter der Wirkung des Präparates nach sehr kurzer Zeit (4 Tage nach Anwendung desselben) sein Leistungsmaximum im wesentlichen erreicht.

Die ständige Verlängerung der Versuchszeit nach dem 18. VT. hatte keine Beeinträchtigung der Durchschnittsleistung zur Folge und wurde von M. nicht unangenehm empfunden. Er hielt die festgesetzten Zeiten ohne Schwierigkeit durch.

Fünf Tage nach Anwendung des Präparates fiel es M. auf, daß er mit weniger Anstrengung als bisher rechnete. Einige Tage später behauptete er, auch im Dienst fühle er sich frischer.

Ferner machte er die Beobachtung, daß durch das Präparat sein Appetit stark angeregt sei, so daß er mit den ihm zustehenden Rationen nicht mehr auskäme. Daraufhin wurden ihm vom Chefarzt des Lazaretts morgens und abends doppelte Rationen bewilligt.

Am 23. VT. erklärte M., daß er deutlich die anregende Wirkung des Präparates spüre. Tagsüber sei er außerordentlich frisch und leistungsfähig. Sein Schlaf sei tief und traumlos, morgens nach dem Wecken sei er nicht mehr verschlafen, sondern gleich hell wach. Am 25. VT.: „Sogar der Nachtdienst fällt mir jetzt leichter. In der vergangenen Nacht war ich so munter und angeregt, daß ich einem Freunde einen Brief in Gedichtform geschrieben habe. Derartiges ist vorher niemals bei mir vorgekommen."

Daß der Nachtdienst die Leistungsfähigkeit von M. nach Anwendung des Präparates weniger stark beeinträchtigte, ging deutlich aus der Leistung hervor. Diese zeigte an den auf Nachtdienst folgenden VTn. gar keinen oder nur einen sehr geringen Abfall.

Da nach dem 28. VT. überhaupt kein Leistungsanstieg mehr erfolgte, war anzunehmen, daß die Leistungskapazität der Vp. ausgeschöpft war. Daher wurden die Leistungskontrollen nach dem 31. VT. in größeren Zeitabständen vorgenommen.

Die bisherigen Ergebnisse dieser VR. haben lediglich gezeigt, in welcher Weise das Präparat wirkt. Wichtig war es aber auch, über die Wirkungsdauer desselben Feststellungen zu machen. Zu diesem Zweck erhielt M. nach dem 35. VT. wieder das Leerpräparat.

Die 4 Wochen später stattfindende Leistungskontrolle ließ noch keinen Rückgang erkennen. Doch zeigte die folgende Kontrolle (10 Wochen nach Absetzen des Präparates) bereits einen erheblichen Abfall der Leistung. Auch vermochte M. nicht mehr das Rechnen 90 Minuten durchzuhalten. Die Versuche mußten nach 60 Minuten abgebrochen werden. Wenn es auch unwahrscheinlich war anzunehmen, M. sei an allen drei Kontrolltagen schlecht disponiert gewesen, so wurde trotzdem 1 Woche später nochmals eine Kontrolle durchgeführt. Diese hatte das gleiche Ergebnis wie die vorhergehende.

Das Arbeitstempo der Vp. war an diesen VTn. während der ersten 15—20 Minuten ebenso wie unter der Wirkung des Präparates. Danach ließ es auffallend nach, wurde ungleichmäßig und verlief gegen Schluß der VTe. stockend. M. war deutlich anzumerken, daß er sich sehr anstrengte. Nach dem 39. VT. erklärte er: „Das Rechnen fiel mir heute sehr schwer. Ich weiß gar nicht, was mit mir los ist, früher ging es doch viel besser."

Die ungefähr 4 Wochen später durchgeführte Kontrolle zeigte ein noch schlechteres Ergebnis. An diesen VTn. hielt M. nicht länger als 50 Minuten durch. Er hatte sich so sehr angestrengt, daß er stark schwitzte. M. äußerte immer wieder sein Erstaunen darüber, daß „die Tropfen" nicht mehr so gut wirkten wie früher. Das spürte er auch in seiner dienstlichen Tätigkeit.

Zwischen dieser und der folgenden Leistungskontrolle hatte M. einen 14tägigen Urlaub, den er größtenteils mit einer Paddelfahrt ausfüllte. Wie die nächste Kontrolle (46. und 47. VT.) zeigte, hatte auch der Urlaub M.s Leistungsfähigkeit nicht wesentlich gebessert.

Nach dem 47. VT. erhielt M. abermals Testoviron, und zwar täglich 2 mg. Durch die 4 Wochen später stattfindende Kontrolle (48. und 49. VT.) wurde festgestellt, daß er seinen früheren hohen Leistungsgrad wieder erreicht hatte. Schon zu Beginn des 48. VT. meinte er, jetzt würde es sicher wieder gut werden; denn er fühle sich sehr frisch. Nach dem Versuch erklärte er: „Ich habe mich heute längst nicht so anzustrengen brauchen wie während der letzten Rechentage. Es geht mir auch sonst sehr gut, ich fühle mich recht munter und leistungsfähig. Die viele Arbeit der letzten Wochen habe ich leicht geschafft. Trotz der häufigen Nachtwachen merke ich nichts von Abspannung. Allerdings verspüre ich auch wieder einen starken Appetit."

Die letzte Kontrolle (50. und 51. VT.) führte zu ähnlichen Resultaten wie die vorhergehende.

Ein Überblick über die Ergebnisse dieser VR. läßt deutlich erkennen, daß auch bei Personen mit nicht herabgesetzter Leistungsfähigkeit durch Testoviron eine Steigerung der Leistungsfähigkeit erreicht werden kann. Doch ist diese nicht von Dauer; sowie die unmittelbare Wirkung des Präparates nicht mehr besteht, sinkt die Leistungsfähigkeit allmählich auf ihr früheres, durch Übung erreichtes Niveau zurück.

2. Versuchsreihe 4.

Dauer 14 Monate; Versuchstätigkeit R_1; Dosis 2,5 mg Testoviron.

G. W., 36 Jahre, verheiratet, Sanitäts-Gefreiter in einem Reservelazarett, von Beruf Musiklehrer; schlanker, leptosomer Körperbau von mittlerer Größe. Ein organisch krankhafter Befund lag nicht vor. W. ist vom Truppenarzt überwiesen worden, da der Dienst ihn außerordentlich stark anstrengte, er sich ständig abgespannt fühlte, sein Nachtschlaf schlecht war und er über häufige Kopfschmerzen klagte.

W. war in einem Reservelazarett tätig. Die Versuche fanden statt, nachdem W. ungefähr 6 Stunden Dienst getan hatte.

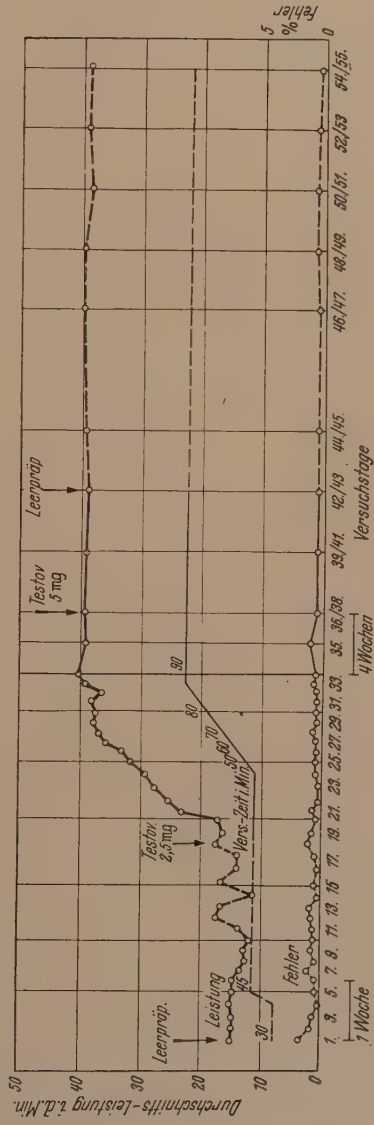


Abb. 4. Durchschnittliche Leistung während VR. 4. Dauer der VR. 14 Monate. Vp. G. W., 36jähriger Mann. Leistungsverlauf bei Anwendung von Leerpräparat — — —, von täglich 2,5 bzw. 5 mg Testoviron ———. Die Leistungskontrollen sind bis zum 34. VT. täglich, danach in größeren Zeitabständen durchgeführt worden.

Solange W. Leerpräparat erhielt, waren seine Leistungen sehr gering. Obwohl er sich sehr anstrengte, gelang es ihm nicht, während der ersten 10 Tage die Leistung auch nur wenig zu verbessern. Nach den Versuchen war er abgespannt und klagte meist über Kopfschmerzen, die durch dauernde starke Konzentration hervorgerufen sein sollten. Als am 7. VT. die Versuchszeit um 15 Minuten erhöht worden war, wurde es ihm sehr schwer, diese Zeit durchzuhalten. Diese Zeitverlängerung wirkte sich bis zum 10. VT. in einem ständigen Rückgang der Leistung aus. Erst am 11. und 12. VT. war eine Leistungssteigerung festzustellen. Die am 12. VT. erreichte Steigerung wurde nur am 18. VT. übertroffen, aber so gering, daß sie kaum ins Gewicht fällt. Der starke Leistungsrückgang am 14., 16. und 17. VT. ist hauptsächlich darauf zurückzuführen, daß W. an den vorhergehenden Tagen Nachtwache gehabt hatte.

Am 18. VT. wurde das Leerpräparat durch Testoviron ersetzt. An den beiden folgenden Tagen war noch keine Leistungssteigerung zu beob-

achten. Doch am dritten Tage nach Verabreichung des Präparates (21. VT.) stieg die Leistung ruckartig an und zwar um fast 43 % gegenüber dem Vortage. An jenem VT. setzte W. gleich mit einem wesentlich schnelleren Tempo als bislang ein und hielt es abgesehen von geringen Schwankungen bis zum Schluß durch. Von nun an war ein stetiger Leistungsanstieg festzustellen. Dieser wurde auch nicht beeinträchtigt, als vom 25. VT. an die Versuchszeit von Tag zu Tag eine Verlängerung erfuhr.

Die Leistungssteigerung erreichte am 34. VT. mit einer durchschnittlichen Minutenleistung von 40 Aufgaben ihren Abschluß. W. hatte, nachdem er 3 Wochen lang das Präparat angewandt hatte, seine Leistung um mehr als 100 % erhöht.

Von nun an fanden die Leistungskontrollen nicht mehr täglich statt, sondern erfolgten in größeren Zeitabständen, zuerst ungefähr alle 2, dann alle 4 Wochen, später in noch größeren Zeiträumen (vgl. Abb. 4). Die Kontrollen zeigten, daß W. die erreichte Leistung auch weiterhin hielt.

An den VTn. mit Leerpräparat rechnete W. stets mit starker Anstrengung. An manchen Tagen mußte er sich sehr zusammennehmen, um die Versuchszeit durchzuhalten. Oft rutschte er unruhig auf dem Stuhl hin und her, seufzte und stöhnte, besonders gegen Ende der Versuchszeit. Obwohl die Rechentätigkeit an jedem Tage 30, später 45 Minuten ausgeübt wurde, trat im Laufe der ersten Wochen nur eine unwesentliche Verbesserung dieses Zustandes ein. W. vermochte nicht recht, in Übung zu kommen.

Auch als die Leistung unter der Wirkung von Testoviron schon anstieg, mußte sich W. immer noch sehr anstrengen. Doch ungefähr 1 Woche nach Anwendung des Präparates ließ die Anstrengung deutlich merkbar nach, so daß dies auch W. auffiel. Als er die Feststellung gemacht hatte, meinte er, mit der Wirkung der Tropfen habe es zwar etwas lange gedauert — die VR. lief 4 Wochen, davon 3 mit Leerpräparat — doch jetzt spüre er sie deutlich. Am 32. VT. erklärte er: „Wenn ich meinen gegenwärtigen Zustand mit meinem früheren vergleiche, so muß ich sagen, daß ich arbeitsfreudiger geworden bin. Die frühere Abgespanntheit und die Arbeitsunlust sind vorüber. Ich habe jetzt immer die Neigung, etwas zu tun. Auch ist der Geschlechtstrieb, der in den letzten Wochen nachgelassen hatte, wieder stärker geworden. Der Nachtschlaf hat sich ebenfalls gebessert. Nur ist durch den dauernden Nachtdienst das Schlafbedürfnis immer noch ziemlich stark."

W.s Leistungsfähigkeit hat sich in der Folgezeit weiter gebessert, was sich nicht in einer weiteren Erhöhung der Leistung zeigte — denn in bezug auf die Rechentätigkeit war das Maximum erreicht — sondern in dem Nachlassen der hierfür nötigen Anstrengung. Allerdings kamen auch VTe. vor, an denen er sich wieder stärker anstrengen mußte, dann nämlich, wenn der Dienst mit den häufigen Nachtwachen besonders hohe An-

forderungen an ihn stellte. Trotz des oft aufreibenden Dienstes ist es niemals vorgekommen, daß W. die lange Versuchszeit nicht durchhielt. Eine derartige andauernde starke Konzentration, wie sie diese Rechentätigkeit erforderte, wäre ihm, wie er behauptete, unter den gegebenen Umständen vor der Testovironkur nicht möglich gewesen.

Auch seine dienstliche Tätigkeit machte ihm weniger Schwierigkeiten als früher. So fühlt er sich z. B. durch die Nachtwachen nicht so abgespannt wie vor der Anwendung des Präparates. Mehrmals erklärte er im Verlauf der VR., er glaube nicht, daß er ohne „die Tropfen" die zu leistende Arbeit schaffen würde.

Aus den bis zum 38. VT. gemachten Feststellungen könnte man den Schluß ziehen, daß unter den vorliegenden Bedingungen W.s Leistungsfähigkeit hinsichtlich der Rechentätigkeit vollkommen ausgeschöpft sei; denn ein Leistungsanstieg ist nach dem 34. VT. nicht mehr beobachtet worden. Im Anschluß daran tauchte nun die Frage auf, ob es nicht doch möglich wäre, einen noch weiteren Anstieg zu erreichen, wenn die Dosis erhöht würde.

Um dies zu entscheiden, erhielt W. nach dem 38. VT. 2 Monate lang die doppelte Dosis, also täglich 5 mg Testoviron.

Die Versuchsergebnisse lassen erkennen, daß auch die erhöhte Dosis bei W. keine weitere Leistungssteigerung bewirkte. Wäre diese möglich gewesen, so hätte sich das im Verlauf von 2 Monaten zeigen müssen. W. rechnete wie bisher, die Anstrengung war nicht geringer. Auch behauptete er, daß sich hinsichtlich seines Befindens nichts geändert habe, die erhöhte Dosis wirke sich weder angenehmer noch unangenehmer aus als die bisherige.

Wir versuchten nun noch, die Dauer der Testovironwirkung zu prüfen. Es wurde daher 5 Tage nach dem 43. VT., als W. sein letztes Fläschchen aufgebraucht hatte, das Testoviron durch das Leerpräparat ersetzt und die VR. noch 9 Monate lang durchgeführt.

Der weitere Verlauf der VR. zeigte, daß ein Rückgang der Leistung nicht stattgefunden hatte. Wohl wies die Leistung von VT. zu VT. geringe Schwankungen auf, auch rechnete W. an einzelnen VTn. mit geringerer Anstrengung als an anderen, doch ist dies auf die jeweilige Tagesdisposition zurückzuführen. Im ganzen betrachtet hat W. die durch das Präparat erlangte Leistungshöhe gehalten.

Auch war sein Verhalten beim Rechnen in den 9 Monaten nach Absetzen des Testovirons nicht anders als während der Anwendung desselben.

Auf Grund dieser Ergebnisse kann man annehmen, daß bei W. eine Dauerwirkung erzielt worden ist.

Gegen diese Annahme könnte der Einwand gemacht werden, daß bei W. eine Dauerwirkung des Präparates nicht vorzuliegen brauche, es sei durchaus möglich, daß sich W. im Laufe der VR. ein sehr gutes

Training angeeignet hätte, das ihn befähigte, die durch das Präparat erlangte Leistungshöhe auch weiterhin zu halten.

Dagegen spricht die Erfahrung. Ein Training ist nur dann auf der Höhe zu halten, wenn die Tätigkeit, in der das Training erworben wurde, dauernd ausgeübt wird. Hört dagegen diese Ausübung auf, so geht das Training zurück. Im Falle W. wurde das Rechnen so lange täglich ausgeübt, bis W. sein Leistungsmaximum erreicht hatte. Danach fanden die Leistungskontrollen zuerst alle 3, dann alle 4, später alle 6 und zuletzt alle 8 Wochen statt. W. rechnete also nach Erreichung des Leistungsmaximums, besonders während der letzten 9 Monate so selten, daß es zur Erhaltung des erlangten Trainings bestimmt nicht genügt hätte. Wenn er trotzdem in seiner Leistungsfähigkeit nicht nachließ, so kann dies nicht im Training begründet sein. Eine gewisse Berechtigung hätte der Einwand, wenn W. nach Erreichung des Leistungsmaximums und nach Absetzen des Präparates täglich in der bisherigen Weise weiter gerechnet hätte.

Ferner kann man gegen jenen Einwand die Ergebnisse der VR. 3 anführen. M., mit dem diese VR. durchgeführt worden ist, hatte sich zweifellos ein gutes Training angeeignet. Doch ermöglichte ihm dieses lediglich, ungefähr 8 Wochen nach Absetzen des Präparates an den einzelnen Kontrolltagen nur während der ersten 15—20 Minuten in dem bisherigen schnellen Tempo zu rechnen. Nach dieser Zeit ließ das Tempo nach und zwar so stark, daß M. gegen Schluß dieser VTe. kaum noch ein Drittel der Anfangsleistung erreichte. Er hielt trotz des Trainings nicht einmal die festgesetzte Versuchszeit von 90 Minuten durch. Erst nachdem er das Präparat wieder anwandte, erlangte er seine frühere Leistungshöhe wieder.

Damit ist gezeigt, daß unsere Annahme, bei W. sei eine Dauerwirkung erreicht worden, zu Recht besteht.

3. Versuchsreihe 5.

Dauer 18 Monate; Versuchstätigkeit R_1; Dosis 0,35 mg Progynon.

J. Kr., 36 Jahre, ledig, Geschäftsführerin in einer vegetarischen Gaststätte, graziler, leptosomer Körperbau von mittlerer Größe. Frl. Kr. klagte über häufige Kopfschmerzen und schlechten Nachtschlaf, konnte auch tagsüber nicht schlafen, fühlte sich dauernd müde und abgespannt. Ermüdete auch bei Spaziergängen schnell. Ihr fehlte jegliche Initiative und Arbeitsfreude, was sie sehr bedrückte. Starker Gewichtsverlust in den letzten Monaten. Menstruation unregelmäßig und schmerzhaft. Die körperliche und geistige Abgespanntheit hatte einen derartigen Grad erreicht, daß die berufliche Tätigkeit nicht ausgeübt werden konnte. Ein organisch krankhafter Befund lag nicht vor, es wurden lediglich präklimakterische Erscheinungen festgestellt.

Die Versuche fanden, solange Frl. Kr. ihren Beruf nicht ausüben konnte, vormittags um 9 Uhr statt, nur ausnahmsweise wurden sie am Nachmittag durchgeführt.

Die Versuchstätigkeit fiel Frl. Kr. besonders in der ersten Woche außerordentlich schwer. Da Vp. ihren Beruf nicht ausübte und infolgedessen hierfür keine Kraft aufzuwenden hatte, wurde versucht, die Versuchsdauer möglichst von Tag zu Tag zu verlängern. Dadurch war sie nach allen VTn. vollkommen abgespannt. Sie hatte große Mühe, die festgesetzte Versuchszeit durchzuhalten.

Obwohl Vp. sich sehr anstrengte, war der Übungsfortschritt ohne Progynon gering. Wir hielten es deshalb für angebracht, das Leerpräparat bereits nach dem Versuch des 9. VT. durch das richtige zu ersetzen. Der folgende Versuchstag brachte noch keine Leistungssteigerung, wohl aber der nächste (11. VT.). Nach dem Versuch dieses Tages behauptete Vp., daß ihr das Rechnen leichter gefallen sei als bisher. Ob diese Steigerung schon auf die Wirkung des Progynons zurückzuführen war, kann nicht mit Sicherheit behauptet werden. Daß die Leistung am nächsten VT.

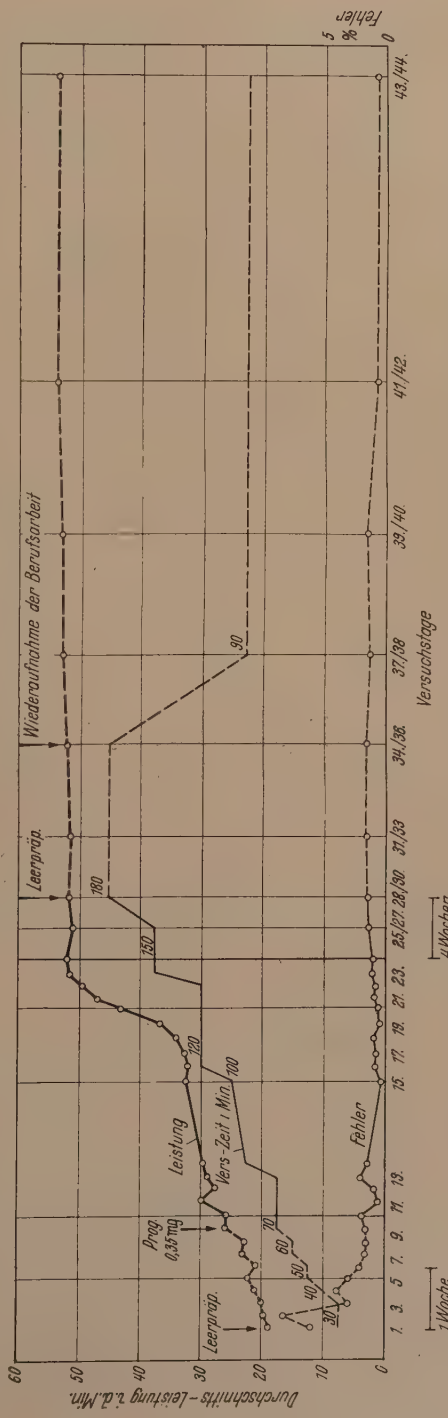


Abb. 5. Durchschnittliche Leistung während VR. 5. Dauer der VR. 18 Monate. Vp. J. Kr., 36jährige Frau. Leistungsverlauf bei Anwendung von Leerpräparat — — —, von täglich 0,35 mg Progynon ————. Die Leistungskontrollen sind bis zum 24. VT. (mit Ausnahme der Zeit zwischen dem 14. und 15. VT.) täglich, danach in größeren Zeitabständen durchgeführt worden. Die Verkürzung der Versuchszeit vom 37. VT. an erfolgte, weil Vp. nach Wiederaufnahme ihrer Berufsarbeit nur beschränkte Zeit zur Verfügung stand.

wieder zurückging, spricht nicht dagegen; denn an diesem und dem folgenden Tage fühlte sich Vp. nicht wohl. Sie hatte nachts sehr schlecht geschlafen und kam mit starken Kopfschmerzen zu den Versuchen.

Nach dem 14. VT. mußte die Leistungskontrolle aus zwingenden Gründen für 11 Tage unterbrochen werden.

Am 20. VT. stieg die Leistung ruckartig stark an. Vp. rechnete an diesem Tag sehr frisch und schwungvoll. Diesen Schwung ließ sie auch an den folgenden VTn. erkennen. Sie behauptete, daß sie sich von Tag zu Tag wohler fühle, daß sie nachts gut schliefe und ihre Kopfschmerzen nachgelassen hätten. Das Rechnen führte sie mit wesentlich geringerer Anstrengung aus als bisher. Infolgedessen wurde die Versuchszeit am 23. VT. gleich um 30 Minuten verlängert. Trotz dieser langen Arbeitszeit (150 Minuten) war noch ein Leistungsanstieg festzustellen.

Als der 24. VT. keine wesentliche Steigerung mehr zeigte, fanden die Leistungskontrollen in größeren Zeiträumen statt.

Am 27. VT. wurde die Versuchszeit abermals um 30 Minuten verlängert. Auch die Zeit von 180 Minuten hielt Vp. ohne Schwierigkeit durch. Während dieser langen Versuchszeiten wurde nach 90 oder 100 Minuten eine Pause von ungefähr 20 Minuten gemacht.

Die drei folgenden VTe. brachten noch eine geringe Leistungssteigerung, so daß am 30. VT. eine Durchschnittsleistung von 52,8 Aufgaben in der Minute erreicht wurde. Das bedeutet bei einer Versuchszeit von 3 Stunden eine respektable Leistung, die nur von jemand hervorgebracht werden kann, dessen Leistungsfähigkeit auf der Höhe ist. Dies traf jetzt für Vp. zu. Durch die zweimonatige Hormonbehandlung fühlte sie sich vollkommen wiederhergestellt. Ihr früher unregelmäßiger Menstruationscyclus, der durch das Progynon anfangs noch um ungefähr 1 Woche verzögert worden war, begann wieder normal und ohne Schmerzen zu verlaufen. Kopfschmerzen und Tagesmüdigkeit waren verschwunden, nachts schlief sie gut. Sie fühlte sich wieder frisch und arbeitsfähig. Auch den früheren Gewichtsverlust hatte sie wieder aufgeholt. Sie behauptete, noch niemals an Gewicht so schnell zugenommen zu haben wie in den letzten 6 Wochen. Ihren Angehörigen und Bekannten fiel sie durch ihr frisches und gesundes Aussehen auf. Der Facharzt, der sie vor Beginn der Versuche untersucht hatte und dem sie sich 10 Wochen später wieder vorstellte, bestätigte ihre vollkommene Wiederherstellung.

Um nun die Dauer dieser günstigen Progynonwirkung festzustellen, erhielt Vp. nach dem 30. VT. wieder Leerpräparat. Der weitere Verlauf der VR. zeigte, daß die erreichte Leistung gehalten wurde.

Zweieinhalb Monate nach Absetzen des Progynons nahm Vp. ihre Berufstätigkeit wieder auf und zwar gleich in vollem Umfange. Nun mußte es sich zeigen, ob die wiederhergestellte Leistungsfähigkeit erhalten blieb oder nicht. Die Versuche fanden jetzt nach der Berufsarbeit statt.

Die Versuchsdauer wurde auf 90 Minuten beschränkt. Diese Zeit reichte für unsere Feststellungen vollkommen aus, wenn man in Betracht zieht, daß Vp. in die Versuchsarbeit eintrat, nachdem sie ihre anstrengende Berufsarbeit hinter sich hatte.

Die erste Leistungskontrolle unter den neuen Bedingungen fand ungefähr 6 Wochen nach Wiederaufnahme der Berufsarbeit statt. Sie ließ keinen Leistungsrückgang erkennen. Vp. rechnete ebenso flott und sicher wie vorher. Die vorletzte Kontrolle, die $7^1/_2$ Monate nach Wiederaufnahme der Arbeit vorgenommen wurde, zeigte sogar noch einen Leistungsanstieg. Die damit erreichte Leistungshöhe wurde auch 5 Monate später bei der letzten Kontrolle (15 Monate nach Absetzen des Progynons) noch gehalten. Dabei brauchte sich Vp. nicht stärker als sonst anzustrengen; sie erweckte gegen Schluß der einzelnen VTe. vielmehr den Eindruck, als vermöchte sie noch länger als 90 Minuten zu rechnen, was sie nach den Versuchen auch selber behauptete. Ihrer Berufsarbeit, der Leitung einer gutbesuchten vegetarischen Gaststätte, die im Laufe der Kriegszeit immer schwieriger geworden war, fühlte sie sich vollkommen gewachsen.

Aus den Ergebnissen dieser VR. kann zweifellos geschlossen werden, daß bei Frl. Kr. eine Dauerwirkung erreicht worden ist.

4. Versuchsreihe 6.

Dauer 22 Monate; Versuchstätigkeit R_1; Dosis 0,35 mg Progynon (eine Zeitlang 0,5 mg).

M. V., 61 Jahre, ledig, Näherin, von kleinem, etwas schwächlichem Körperbau. Vor 4 Jahren hatte sie Diabetes mellitus, der nach 13wöchiger Behandlung im Krankenhaus behoben war. Während der letzten Jahre war ihr Blutzuckergehalt normal, ebenso auch zu Beginn dieser Versuche (97 mg%). Obwohl auch ein sonstiger krankhafter Befund nicht vorlag, klagte sie über starke Abgespanntheit. Nachts schlief sie schlecht, tagsüber fühlte sie sich dauernd müde. Ihre Arbeitsfähigkeit nahm ständig ab, zeitweise war sie arbeitsunfähig.

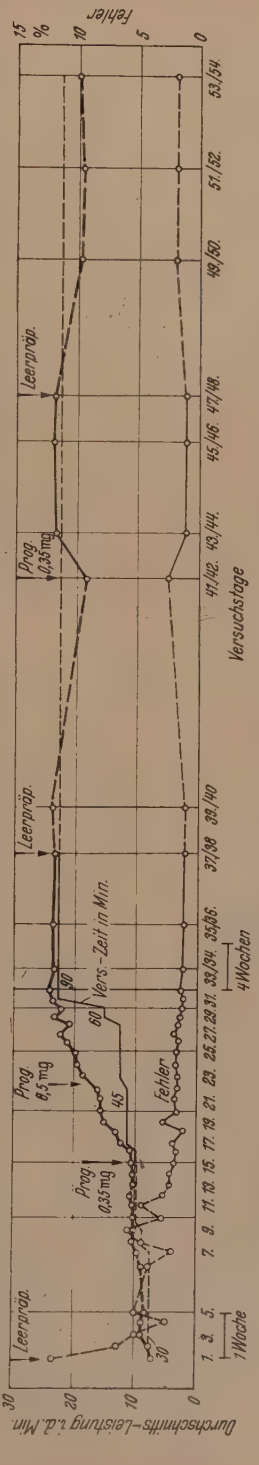


Abb. 6. Durchschnittliche Leistung während VR. 6. Dauer der VR. 22 Monate. Vp. M. V., 61jährige Frau. Leistungsverlauf bei Anwendung von Leerpräparat — — — —, von täglich 0,35 bzw. 0,5 mg Progynon ————.

Während der ersten Zeit hielt Frl. V. nur mit Mühe die Versuche durch. Das dauernde Konzentrieren auf die Rechentätigkeit machte ihr große Schwierigkeiten. Am 1. VT. begann sie schon nach den ersten 10 Minuten zu seufzen und zu stöhnen. Der Versuch des 2. VT. hatte sie so angestrengt, daß sie eine Zeitlang erschöpft vor dem Apparat sitzen blieb, indem sie erklärte: „Die Anstrengung hat mich ganz schwindlig gemacht." Besonderer Umstände halber mußten die Versuche nach dem 5. VT. für 2 Wochen unterbrochen werden. Die VTe., die auf diese Pause folgten, waren für Vp. ebenso anstrengend wie die vorhergehenden. Die geringe Verlängerung der Versuchszeit um 5 Minuten am 8. und am 11. VT. fiel ihr sofort auf. Als sie am Schluß des 14. VT. gefragt wurde, ob sie noch etwas weiterrechnen könnte, lehnte sie dies ab mit der Begründung, sie sei so abgespannt, daß sie zuweilen die Aufgaben nicht aufzufassen vermöchte.

Trotz starker Anstrengung war es Vp. nicht möglich, während der ersten VTe. einen wesentlichen Übungsfortschritt zu erreichen. Die am 8. VT. erlangte Leistung ist bis zum 15. VTe. kaum überschritten worden.

Vom 15. VT. an erhielt Vp. statt des Leerpräparates täglich 0,35 mg Progynon. 3 Tage später, am 17. VT. (es lag noch ein Sonntag dazwischen, an dem die Leistung nicht geprüft worden ist), war bereits ein deutlicher Leistungsanstieg zu beobachten, ebenso an den drei folgenden VTn.

Da am 21. und 22. VT. eine Steigerung nicht mehr erfolgte, wurde vom 22. VT. an die Dosis auf 0,5 mg erhöht. Ob der verhältnismäßig starke Leistungsanstieg am folgenden Tage (23. VT.) schon auf die erhöhte Dosis zurückzuführen ist, kann nicht mit Bestimmtheit behauptet werden. Doch ist es anzunehmen, da erfahrungsgemäß Progynon schnell wirkt. Vielleicht wäre dieser Anstieg auch erfolgt, wenn die Erhöhung der Dosis nicht stattgefunden hätte. Doch sind dies nur Vermutungen, etwas Bestimmtes läßt sich hierüber auf Grund der Versuchsergebnisse nicht sagen. Es wäre zweifellos zweckmäßiger gewesen, wenn wir den Leistungsverlauf unter der Wirkung der bisherigen Dosis noch 1 Woche länger beobachtet und dann erst, wenn ein Anstieg nicht mehr erfolgt wäre, die Dosis erhöht hätten.

Vom 23. VT. an war wieder eine ständige Leistungssteigerung zu beobachten. Am 24. VT. erklärte Vp. spontan: „Ich merke jetzt, daß es mir besser geht. Sonst habe ich schlecht geschlafen und schwer geträumt, nun ist das vorbei, jetzt kann ich wieder richtig schlafen. Ich fühle mich auch frischer als früher." Der Rückgang am 28. VT. ist darauf zurückzuführen, daß Vp. vor dem Versuch ungefähr 6 Stunden angestrengt körperlich gearbeitet hatte und daher abgearbeiteter die Versuchstätigkeit begann als bisher. Wenn Vp. auch behauptete, die Arbeit habe ihr nicht viel ausgemacht, so drückte sich diese Anstrengung doch in der Leistung aus. Die am 29. VT. auf 60 Minuten verlängerte Versuchszeit wurde ohne

Schwierigkeiten durchgehalten. Am 30. VT. erklärte Vp. nach dem Versuch: „Ich fühle mich heute nicht sehr angestrengt. Die lange Zeit macht mir jetzt weniger aus als die kürzere früher, ich hätte heute sogar noch weiterrechnen können." Daraufhin wurde am 31. VT. die Versuchszeit um 30 Minuten verlängert. Diese lange Zeit schaffte sie, ohne sich besonders anzustrengen und ohne im Leistungsdurchschnitt abzusinken.

Vom 32. VT. ab fanden die Leistungskontrollen in größeren Zeitabständen statt. Als am 35. VT., 4 Wochen nach der letzten Kontrolle, dem Vl. das frische Aussehen der Vp. auffiel und er dies äußerte, erwiderte sie: „Das haben mir schon viele gesagt. Ich bin auch sehr froh darüber. Nur gefällt es mir nicht, daß ich an Gewicht so sehr zunehme. Ich habe immer Hunger, und das Essen bekommt mir gut. Aber leider habe ich nicht immer genug."

Bemerkenswert für den Zustand der Vp. unter der Wirkung des Progynons ist noch, daß an VTn. nach Fliegeralarm, wenn Vp. nachts mehrere Stunden im Luftschutzkeller zugebracht hatte, die Leistung nicht zurückging. Wohl erforderte an solchen VTn. das Rechnen eine stärkere Anstrengung als sonst, doch wurde die lange Versuchszeit immer gut durchgehalten.

Nach dem 38. VT. erhielt Vp. wieder Leerpräparat. 1 Monat später (39. und 40. VT.) hielt sie die bisherige Leistungshöhe noch. In der Folgezeit konnte Vp. lange nicht zu den Versuchen erscheinen; denn kurz vor der festgesetzten nächsten Leistungskontrolle erkrankte sie an einer eitrigen Mandelentzündung, die sehr langwierig war. Kaum davon genesen, bekam sie eine schwere Erkältung, von der sie sich, da ihr die nötige Pflege fehlte, nur langsam erholte.

Die Leistungsprüfung am 41. und 42. VT. (5 Monate nach der vorhergehenden) ließ quantitativ und qualitativ einen starken Rückgang erkennen. Vp. rechnete an diesen VTn. viel angestrengter als bisher und mußte sich zusammenreißen, um die festgesetzte Versuchszeit zu schaffen. Nach den Versuchen war sie abgespannt. Auch hatte sich inzwischen ihr Nachtschlaf verschlechtert, zeitweise fühlte sie sich wieder abgespannt und müde. Doch war — nach den Behauptungen der Vp. — ihr Zustand noch nicht so schlecht, wie er zu Beginn dieser VR. gewesen war. Das geht auch daraus hervor, daß es ihr überhaupt möglich war, das Rechnen 90 Minuten lang durchzuhalten, ohne in der Leistung noch stärker nachzulassen.

Durch die Krankheit der Vp. ist die Feststellung über die Wirkungsdauer des Präparates verschleiert worden, denn es war nicht zu entscheiden, ob der Leistungsrückgang erfolgte, weil die Hormonwirkung nachgelassen hatte, oder ob die Krankheit die Ursache war. Um hierüber Klarheit zu schaffen, wiederholten wir den Versuch. Nach dem 42. VT. erhielt Vp. abermals Progynon und zwar täglich 0,35 mg. Schon die 3 Wochen

später durchgeführte Leistungskontrolle (43. und 44. VT.) zeigte, daß Vp. ihre frühere Leistungshöhe quantitativ und qualitativ wieder erreicht hatte. Sie rechnete an diesen VTn. mit viel geringerer Anstrengung als am 41. und 42. VT. und hielt ohne große Mühe die festgesetzte Versuchszeit durch. Hinsichtlich ihres Befindens behauptete sie, ihr Schlaf sei besser geworden und sie fühle sich wieder wohl.

Nachdem Vp. 15 Wochen lang Progynon genommen hatte, erhielt sie nach dem 48. VT. abermals Leerpräparat. Die nächste Leistungsprüfung (49. und 50. VT.), die Umstände halber erst 3 Monate später stattfinden konnte, ließ zwar einen erheblichen, doch nicht so starken Rückgang erkennen wie nach dem ersten Absetzen des Präparates. Vp. rechnete an diesen VTn. zwar angestrengter als an den vorhergehenden, doch hielt sie die Versuchszeit ohne besondere Schwierigkeit durch. Über ihr Befinden sagte sie, daß es sich etwas verschlechtert habe, jedoch nicht so, daß sie nicht ihrer täglichen Arbeit nachgehen könnte. Die vorletzte Kontrolle (51. und 52. VT., 2 Monate nach der vorhergehenden) zeigte keinen weiteren Leistungsrückgang, und das Verhalten der Vp. während der Tätigkeit war ebenso wie bei der vorhergehenden Leistungsprüfung. Auch die letzte Prüfung (2 Monate nach der vorletzten) ließ erkennen, daß Vp. ihre bisherige Leistungshöhe immer noch hielt. Sie rechnete während der letzten VTe. nicht angestrengter als an den Leistungskontrollen vorher. Ihren Angaben nach hatte sich ihr Befinden nicht verschlechtert, so daß sie wie bisher ihrer Tätigkeit nachgehen konnte.

Diese VR. hat zu der Feststellung geführt, daß das Progynon auch auf die herabgesetzte Leistungsfähigkeit einer älteren Frau, die sich schon lange in der Menopause befindet, eine sehr günstige Wirkung auszuüben vermag. Allerdings ist eine Dauerwirkung nicht erzielt worden. Die Wirkung des Progynons ließ nach Absetzen desselben im Laufe der Zeit nach. Sie ging aber nicht so weit zurück, daß Vp. auf den Leistungsstand zurücksank, den sie zu Beginn der VR. gehabt hatte. Zum mindesten war dies 7 Monate nach Absetzen des Präparates nicht der Fall. Daß im Laufe der Zeit ein weiterer Rückgang stattfinden könnte, ist nicht ausgeschlossen. Die beschränkte Wirkungsdauer des Progynons scheint in diesem Fall in der Hauptsache durch den Zustand der Menopause, indem sich Vp. V. befand, bedingt zu sein.

5. Versuchsreihe 7.

Dauer 12 Monate; Versuchstätigkeit R_2; Dosis 1,5 mg Testoviron.

Diese und die folgende VR. sind durchgeführt worden, um festzustellen, ob auch geringere Dosen als die bisher verabreichten noch zu einem deutlichen Erfolg führen würden.

Die Versuche wurden zunächst mit jemand vorgenommen, der über keinerlei Beschwerden klagte und sich hinsichtlich seiner Berufsarbeit voll leistungsfähig fühlte.

K. S., 30 Jahre, Dr. phil. Psychologe; leptosomer Körperbau von mittlerer Größe. Ein krankhafter Befund lag nicht vor.

Da die Tätigkeit R_2 wesentlich schwieriger ist als R_1, gingen dieser VR. drei Vorversuchstage voraus. Obwohl S. sich verhältnismäßig schnell eingearbeitet hatte, rechnete er im ersten Teil der VR. sehr angestrengt. Nach den ersten VTn. war er stark abgespannt. Die Abspannung ließ zwar im Verlauf der folgenden VTe. etwas nach, blieb aber immer noch recht erheblich. S. vermochte nur mit Mühe, die festgesetzte Versuchszeit

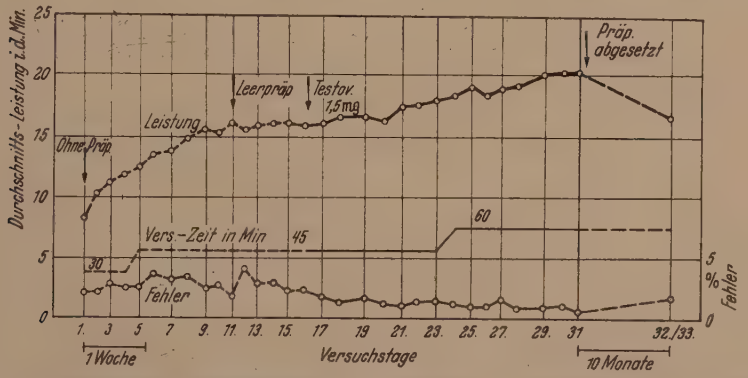


Abb. 7. Durchschnittliche Leistung während VR. 7. Dauer der VR. 12 Monate. Vp. K. S., 30jähriger Mann. Leistungsverlauf bei Anwendung von Leerpräparat — — — —, von täglich 1,5 mg Testoviron ————. Die Leistungskontrollen sind bis zum 18. VT. täglich, bis zum 31. VT. alle 2 bzw. 3 Tage durchgeführt worden. Zwischen der letzten und vorletzten Leistungskontrolle lagen 10 Monate.

durchzuhalten. Das Leistungsmaximum ohne Präparat wurde am 10. VT. erreicht.

Als bis zum 15. VT. ein Leistungsanstieg nicht mehr zu beobachten war, wurde das Leerpräparat durch Testoviron ersetzt. Die Leistungskontrolle fand nach dem 15. VT. möglichst alle 2 Tage statt.

Auch unter der Wirkung des Präparates trat bis zum 19. VT. (also 8 Tage nach Verabreichung desselben) ein Leistungsanstieg kaum in Erscheinung. Der Grund hierfür ist wahrscheinlich in der geringen Dosierung zu suchen, denn die größeren Dosen in den vorhergehenden VRn. bewirkten einen rascheren Erfolg. Erst vom 20. VT. an erfolgte ein fast stetiger Anstieg, der am 28. VT. seinen Höhepunkt erreichte.

Während der ersten 2 Wochen nach Verabreichung des Präparates rechnete S. immer noch mit starker Anstrengung. Dann aber ließ die Anspannung allmählich nach. 1 Woche später fiel es auch S. auf, daß er leichter als bisher rechnete. Die Ausdehnung der Versuchszeit auf 60 Minuten machte ihm nichts aus. S. behauptete, er fühle sich auch sonst

frischer und leistungsfähiger. Außerdem stellte er eine deutliche Steigerung seines Appetits fest.

Was die Qualität der Rechenleistung anbelangt, so läßt die Fehlerkurve nach Verabreichung des Präparates einen fast stetigen Abfall erkennen.

Da bis zum 30. VT. eine weitere Steigerung nicht mehr stattfand, wurde das Präparat abgesetzt und die Leistungskontrolle unterbrochen. Erst 10 Monate später, als bestimmt mit einer Testovironwirkung nicht mehr gerechnet werden konnte, wurde wieder eine Kontrolle an zwei aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführt. Diese zeigte, daß die Leistung bis fast auf die Höhe, die sie vor Anwendung des Präparates hatte, gesunken war. An diesen Kontrolltagen rechnete S. ebenso angestrengt wie vor Verabreichung des Testovirons. Aus diesen Feststellungen geht hervor, daß die Testovironwirkung in der Zwischenzeit vollkommen abgeklungen war.

Vergleicht man die Ergebnisse dieser VR. mit denen der VR. 3, so fällt auf, daß in beiden Fällen durch das Hormonpräparat eine Leistungssteigerung von ungefähr 25 % erreicht worden ist, daß aber diese Steigerung wieder zurückging, sobald die unmittelbare Hormonwirkung aufhörte. Es ist also anzunehmen, daß bei Personen mit normaler Leistungsfähigkeit die Wirkung von Keimdrüsenhormonen nur von beschränkter Dauer ist. Die gesteigerte Leistungsfähigkeit hält an, solange das Präparat verabreicht wird. Nach Absetzen desselben sinkt sie allmählich auf ihre frühere Höhe ab.

6. Versuchsreihe 8.

Dauer 10 Monate; Versuchstätigkeit R_2; Dosierung 1,5 mg Testoviron.

E. B., 37 Jahre, von Beruf Postbetriebsarbeiter, z. Z. Sanitätsgefreiter in einem Reservelazarett. Leptosomer Körperbau von kaum mittlerer Größe. Ernährungs- und Kräftezustand ausreichend. Ein krankhafter Befund lag, abgesehen von häufigem nervösem Hautjucken, nicht vor. Trotzdem fühlte sich B. in seiner Arbeitsfähigkeit stark beeinträchtigt durch hochgradige körperliche Abgespanntheit und dauernde Müdigkeit tagsüber. B., der von seinen Vorgesetzten und Kameraden als fleißiger und zuverlässiger Mitarbeiter geschätzt wurde, klagte ferner über Arbeitsunlust und gedrückte Stimmung.

Die Versuche fanden statt, nachdem B. ungefähr 7 Stunden Dienst im Lazarett getan hatte. Obwohl B. sich während der Vorversuche schnell einarbeitete, war der Übungsfortschritt im Laufe der Versuche mit Leerpräparat gering. B. ermüdete beim Rechnen schnell und hatte Mühe, die festgesetzte Versuchszeit durchzuhalten. Nach fast allen VTn. war er vollkommen abgespannt und klagte verschiedentlich über Kopfschmerzen, die er auf die durch das Rechnen verursachte starke Anstrengung zurückführte.

Die Verabreichung des Leerpräparates übte auf B. hinsichtlich der Leistungsfähigkeit keine suggestive Wirkung aus, wohl aber in bezug auf

das Hautjucken. So erklärte B. am 3. VT. vor Beginn der Versuche, das Präparat wirke bereits, denn das Hautjucken habe seit einem Tag nachgelassen. Doch diese Wirkung hielt nicht lange an; 2 Tage später hatte sich das Jucken wieder eingestellt und verschwand in der Folgezeit zunächst nicht wieder.

Am 12. VT. hatte B. sein Übungsmaximum erreicht. Da an den folgenden VTn. ein Leistungsanstieg nicht mehr beobachtet wurde, erhielt er nach dem 14. VT. täglich 1,5 mg Testoviron.

Besonderer Umstände wegen konnte die nächste Leistungskontrolle erst 3 Tage später durchgeführt werden (15. VT.). Diese ließ bereits eine deutliche Leistungssteigerung erkennen. Noch stärker war der Anstieg am nächsten VT. Auch am 17. und 18. VT. stieg die Leistung weiter an.

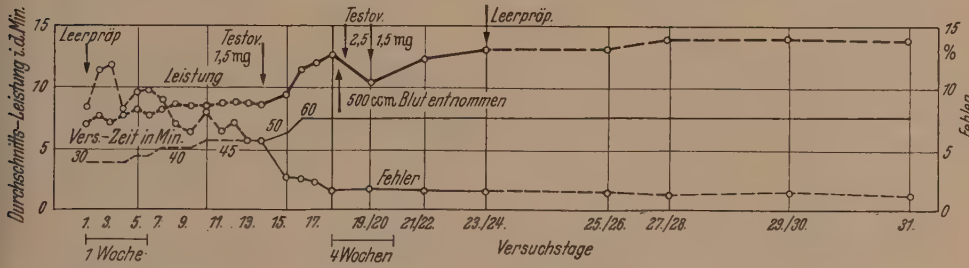


Abb. 8. Durchschnittliche Leistung während VR. 8. Dauer der VR. 10 Monate. Vp. E. B., 37jähriger Mann. Leistungsverlauf bei Anwendung von Leerpräparat — — — —, von täglich 1,5 mg Testoviron ————. Die Leistungskontrollen sind bis zum 18. VT. möglichst täglich, danach in größeren Zeitabständen durchgeführt worden. Nach dem 18. VT. bewirkte eine Blutentnahme von 500 ccm einen Rückgang der Leistungsfähigkeit. Um diesen möglichst schnell aufzuheben, sind 10 Tage lang täglich 2,5 mg gegeben worden.

Die starke Steigerung der Durchschnittsleistung erhält noch ein besonderes Gewicht, wenn man beachtet, daß an diesen VTn. die Versuchszeit eine erhebliche Verlängerung erfuhr.

Die günstige Wirkung des Präparates machte sich auch hinsichtlich der Qualität der Rechenleistung geltend, denn gleichzeitig mit dem Anstieg der Leistung erfolgte ein auffallend starker Abfall der Fehlerkurve.

Daß B. nach Anwendung des Testovirons schneller rechnete als bisher, fiel ihm sofort auf. Doch strengte er sich am 15. und 16. VT. noch ziemlich stark an. Aber schon an den folgenden VTn. war die Anstrengung geringer, was B. auch gleich feststellte.

Sowohl die zahlenmäßigen Ergebnisse als auch die Aussagen von B. deuten auf eine verhältnismäßig rasche Wirkung des Präparates hin. Einen solch schnellen Erfolg hatten wir in Anbetracht der geringen Dosis nicht erwartet, zumal in VR. 7 bei S., einer Vp. mit normaler Leistungsfähigkeit, die Wirkung der gleich großen Dosis nur langsam in Erscheinung trat. Der rasche Erfolg bei B. ist vielleicht dadurch zu erklären, daß B. wegen seines stark erschöpften Zustandes besonders empfänglich für das Testoviron war.

Die so erfolgreich begonnene und rasch fortschreitende Verbesserung der Leistungsfähigkeit bei B. wurde plötzlich unterbrochen durch die Folgen eines Fliegerangriffes. Dieser Angriff fand nach dem 18. VT. statt und forderte u. a. in einer Flakstellung schwere Opfer. Die Verwundeten wurden in das Reservelazarett eingeliefert, in dem B. beschäftigt war und gerade Nachtdienst hatte. Da einige Bluttransfusionen vorgenommen werden mußten, wurde auch B. hierzu herangezogen. Die an ihm vorgenommene Blutentnahme von 500 ccm beeinträchtigte seinen Zustand derart, daß er Tage lang stark erschöpft war. Zur Durchführung der Versuchstätigkeit fühlte er sich nicht imstande. Der Versuch, der 1 Woche später durchgeführt wurde, mußte nach 25 Minuten abgebrochen werden, da B. über starke Kopfschmerzen klagte und nicht mehr weiter zu rechnen vermochte.

Um die Besserung seines Zustandes zu beschleunigen, erhielt B. nun täglich 2,5 mg Testoviron. 1 Woche später fühlte er sich wohler, so daß die Versuche wieder aufgenommen werden konnten. Wenn die Leistung am 19. und 20. VT. auch erheblich unter der letzten lag, so war B. doch imstande, die Versuchszeit von 60 Minuten durchzuhalten. Nach dem 20. VT. (nachdem er 8 Tage lang 2,5 mg Testoviron bekommen hatte) wurde die Dosis wieder auf 1,5 mg gesenkt.

Da B. durch die ständig wachsende Arbeit im Lazarett stärker als bisher beansprucht wurde, konnten die Versuche nicht mehr täglich durchgeführt werden. Die Leistungskontrollen fanden daher in größeren Zeiträumen statt.

Am 21. und 22. VT. (3 Wochen nach dem 20. VT.) hatte B. bereits seine frühere Leistungshöhe wieder erreicht. Sein Wohlbefinden und seine Arbeitsfähigkeit hatten sich wesentlich gehoben, die Arbeitsunlust und die gedrückte Stimmung waren verschwunden. Auch die durch die Blutspende verursachte Abspannung bestand nicht mehr. Sogar das nervöse Hautjucken hatte aufgehört und ist in der Folgezeit nicht wieder aufgetreten.

Da B. nach der nächsten Leistungskontrolle (23. und 24. VT.), die eine weitere Leistungssteigerung erkennen ließ, erklärte, er fühlte sich jetzt wieder voll leistungsfähig und vermöchte, seine Lazarettarbeit gut zu schaffen, erhielt er nach dem 24. VT. Leerpräparat. Die weiteren Kontrollen ergaben, daß B. die erreichte Leistung nicht nur hielt, sondern sogar noch steigerte. Trotz der starken Arbeitsüberlastung und der häufigen Nachtwachen ließ seine Leistungsfähigkeit auch im Dienst nicht nach. Er behauptete wiederholt, daß er ohne „die Tropfen“ seine anstrengende Arbeit kaum durchgehalten hätte. Bei der letzten Kontrolle mußten wir uns mit einem VT. begnügen, weil B. für einen zweiten Tag keine Zeit erübrigen konnte.

Da B. 7 Monate nach Absetzen des Testovirons in seiner Leistungsfähigkeit, die er durch dieses erreicht hatte, nicht nachließ und sich auch sonst in gleicher Weise leistungsfähig fühlte, vermuten wir, daß in diesem Falle ebenfalls eine Dauerwirkung erzielt worden ist.

In den VRn. 7 und 8 sollte festgestellt werden, ob eine wesentlich geringere als die bisher in unseren Versuchen verabreichte Dosis von Keimdrüsenhormon noch zu einem deutlich merkbaren Erfolg führen würde. Die in diesen VRn. transcutan angewandte Dosis von täglich 1,5 mg Testoviron muß nach den bisherigen Erfahrungen als sehr gering bezeichnet werden. In den Prospekten der Schering A.-G. werden für die gleiche Anwendungsart täglich 5 mg (30 Tropfen) empfohlen. Unsere Versuche haben gezeigt, daß auch die Dosis von 1,5 mg zu deutlich merkbarem Erfolg führen kann. Die Steigerung der Leistungsfähigkeit erfolgte bei Vp. B. (VR. 8) ebenso rasch wie bei den früheren Vpn., die 2,5 mg und mehr erhielten.

Wenn im vorliegenden Fall bei einer Vp. mit 1,5 mg Testoviron dieselbe Wirkung erzielt worden ist wie bei anderen mit 2,5 mg, so ist aus dieser Tatsache noch keineswegs zu schließen, daß in Hinsicht auf die Steigerung der Leistungsfähigkeit die Anwendung sehr geringer Hormondosen immer zu den gleichen Erfolgen führen würde wie größere Dosierungen. Unsere Feststellung zeigt lediglich, daß es Fälle gibt, in denen man schon mit außerordentlich geringen Dosen eine ausreichende Wirkung verhältnismäßig rasch erreichen kann.

War bei Vp. B. die Wirkung der 1,5 mg-Dosis schon nach wenigen Tagen an einem starken Leistungsanstieg zu erkennen, so konnte sie bei der nicht leistungsgeschädigten Vp. S. (VR. 7) erst nach 12 Tagen beobachtet werden, und zwar erfolgte die Leistungssteigerung allmählich. Diese langsame Wirkung ist aller Wahrscheinlichkeit nach auf die außerordentlich geringe Dosis zurückzuführen; denn betrachtet man zum Vergleich die Ergebnisse der VR. 3, die gewonnen wurden mit einer Vp., die ebenfalls voll leistungsfähig war, die aber täglich 2,5 mg Testoviron erhielt, so fällt bei dieser Vp. die rasche Wirkung auf, die sich in einem starken Leistungsanstieg kundtat. Doch kann die langsame Wirkung bei Vp. S. auch individuell bedingt sein.

Diese wenigen Versuche genügen noch nicht, um über die Wirkung sehr geringer Testovirondosen allgemein gültige Behauptungen aufzustellen. Sie zeigen aber, daß man mit sehr geringen Dosen in einzelnen Fällen auch zum Ziel kommen kann.

C. Lange Versuchsreihen, in denen die Leistungskontrollen von Anfang an in größeren Zeitabständen stattfanden.

Die bisherigen VRn. waren so angeordnet, daß mehrere Wochen hindurch die Versuche täglich durchgeführt wurden. Das war aber nur mit solchen Personen möglich, die nicht im Arbeitsprozeß standen (nicht arbeitsfähig waren) oder bei

denen es sich einrichten ließ, die Versuche während der letzten Arbeitsstunden am Arbeitsort vorzunehmen, wie dies z. B. in einem Reservelazarett möglich war. Mit Personen, die fest in ihre Berufsarbeit eingespannt waren und zwecks Durchführung der Versuche noch weite Wege zurückzulegen hatten, konnten derartige VRn. unter den gegenwärtigen Zeitumständen nicht vorgenommen werden.

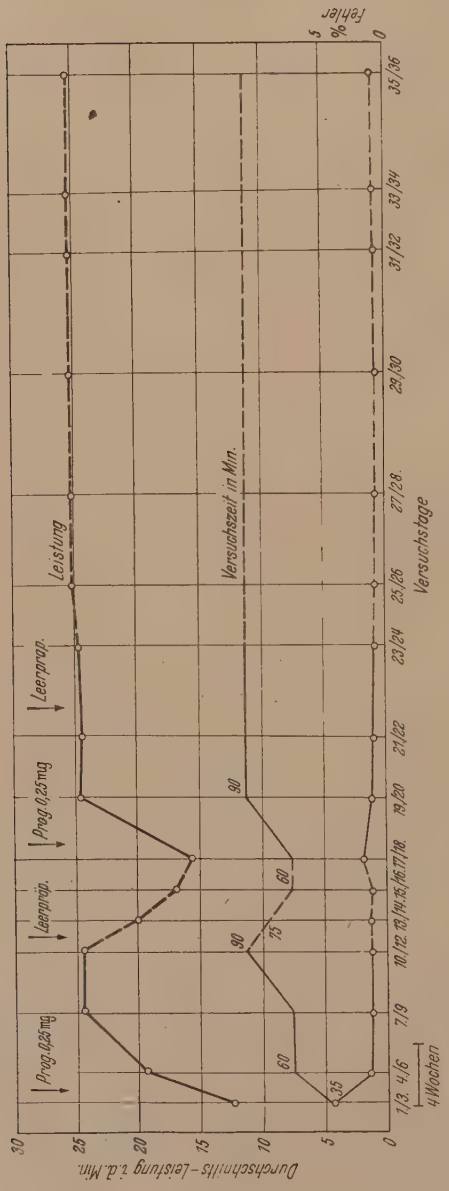


Abb. 9. Durchschnittliche Leistung während VR. 9. Dauer der VR. 19 Monate. Vp. L. D., 42jährige Frau. Leistungsverlauf bei Anwendung von täglich 0,25 mg Progynon ———, von Leerpräparat — — — —. Die Leistungskontrollen erfolgten bis zum 18. VT. alle 2 Wochen, danach in größeren Zeitabständen. [Der Leistungsrückgang nach dem 12. VT. ist durch Krankheit verursacht worden.

Es lag uns aber daran, gerade mit Berufstätigen, deren Leistungsfähigkeit gemindert war, unsere Versuche durchzuführen. Daher mußte die Anordnung der VRn. geändert werden und zwar derart, daß die Leistungskontrollen immer nur in größeren Zeitabständen stattfanden.

Wir stellten nun zu Beginn jeder VR. die Leistungsfähigkeit der Vpn. fest und zwar, um möglichst zuverlässige Werte zu erhalten, an zwei oder drei aufeinanderfolgenden Tagen (entsprechend der Zeit, die den Vpn. zur Verfügung stand). Die Versuchsdauer hierfür betrug an jedem VT. 30 Minuten. Sie wurde nur dann verkürzt, wenn die Vpn. sie nicht durchzuhalten vermochten. Nach dieser Feststellung erhielten die Vpn. das Präparat. Die Leistungskontrollen wurden zunächst alle 2 Wochen, im späteren Verlauf der VRn. in größeren Zeitabständen durchgeführt. Jede Leistungsprüfung umfaßte mindestens zwei VTe. Nur in Ausnahmefällen, wenn es Umstände halber nicht anders möglich war, begnügten wir uns mit einem VT.

Diese Versuchsanordnung schien das für sich zu haben, daß der Übungsfortschritt nicht so stark wirksam sein würde wie bei der täglichen Durchführung der Versuche. Doch haben wir eine völlige Ausschaltung desselben nicht angenommen. Deshalb sind zum Vergleich Kontrollreihen mit Leerpräparaten durchgeführt worden.

1. Versuchsreihe 9.

Dauer 19 Monate; Versuchstätigkeit R_1; Dosis 0,25 mg Progynon.

L. D., 42 Jahre, Lagerarbeiterin, ledig; große, kräftige Frau in ausreichendem Ernährungszustand von blassem Aussehen. Ein organisch krankhafter Befund lag nicht vor. Trotzdem fühlte sich Frl. D. körperlich und geistig sehr abgespannt. Ihre Berufsarbeit vermochte sie nur unter stärkster Anstrengung zu verrichten. Bei der Arbeit traten verschiedentlich Ohnmachtsanfälle auf. Tagsüber war sie dauernd müde. Nach der Berufsarbeit mußte sie eine Zeitlang ruhen, bevor sie imstande war, ihre Haushaltsarbeit zu tun. Die Menstruation war unregelmäßig, blieb Monate lang aus.

Für die ersten 3 VT., an denen die Anfangsleistungsfähigkeit festgestellt wurde, war eine Versuchszeit von 40 Minuten vorgesehen. Vp. hatte große Mühe, diese Zeit am 1. VT. durchzuhalten. Schon nach 30 Minuten erklärte sie, daß sie kaum noch imstande sei, die Zahlen aufzufassen. Durch Zureden gelang es, sie zum Weiterrechnen zu veranlassen. Nach dem Versuch war sie abgespannt. Am 2. und 3. VT. mußte der Versuch nach 35 Minuten abgebrochen werden, da Vp. nicht mehr weiterrechnen konnte. Sie behauptete, ihr „ginge alles durcheinander, ihre Gedanken seien wie weggeblasen." Sie machte nach den Versuchen einen erschöpften Eindruck.

Nach dem 3. VT. hatte sie täglich 0,25 mg Progynon zu nehmen, was auf Morgen und Abend verteilt werden mußte. Die erste Leistungskontrolle — 2 Wochen später — zeigte eine Steigerung, wie wir sie nicht erwartet hatten. Die Leistung war um fast 60 % verbessert, der Fehlerprozentsatz von 4,2 auf 1,3 herabgesetzt worden. Vor Beginn des 4. VT. erklärte Vp. unaufgefordert: „Die Medizin hat bei mir gut geholfen. Ich kenne mich selber nicht mehr wieder. Meine Schlappheit ist verschwunden. Ich bin nicht mehr so abgespannt und müde wie sonst. Ich habe mich schon selber gefragt, ob ich mir das nicht alles einbilde. Aber das ist nicht so, denn ich leiste doch wirklich mehr als sonst und fühle mich viel wohler. Meine Kolleginnen wundern sich über meinen veränderten Gesundheitszustand. Meine gedrückte Stimmung ist auch vorüber und die Arbeitsunlust ebenfalls; ich habe sogar den Drang, etwas zu tun."

Auf Grund dieses günstigen Berichtes wurde die Versuchszeit am 4. VT. gleich auf 60 Minuten festgesetzt. Die Arbeitsweise der Vp. rechtfertigte ihre Behauptungen vollkommen. Sie setzte sofort mit einem recht flotten Tempo ein und hielt dieses ohne nachzulassen bis zum Schluß durch. Ebenso verlief auch der 5. und 6. VT. Vp. war nach den Versuchen nicht erschöpft.

In diesem Fall liegt es klar auf der Hand, daß diese starke Leistungssteigerung nicht auf Übung beruhen kann, sondern der Wirkung des Präparates zugeschrieben werden muß.

Die nächste Leistungskontrolle ließ wieder eine beträchtliche Leistungssteigerung erkennen. Das Rechnen ging noch leichter vonstatten als

2 Wochen vorher. Nach diesen Versuchen behauptete Vp., ihre frühere Abgespanntheit sei nun vollkommen vorüber. Vor Beginn dieser Kur habe sie nach der Berufsarbeit immer ruhen müssen, bevor sie imstande gewesen sei, ihren Haushalt zu machen. Doch jetzt brauchte sie diese Ruhepause nicht mehr, die Hausarbeit ginge ihr leicht von der Hand. Sie hätte abends noch Lust, etwas zu tun.

Bei der folgenden Leistungsprüfung (10.—12. VT.) wurde die Versuchszeit auf 90 Minuten verlängert. Auch das wurde ohne Schwierigkeit geschafft. Doch war eine weitere Erhöhung der Durchschnittsleistung nicht festzustellen. Daher erhielt Vp. nach dem 12. VT. Leerpräparat. Unglücklicherweise trat bei ihr ungefähr 1 Woche später am rechten Knie ein Karbunkel auf, das ihr starke Schmerzen bereitete. Da sie ihre Berufsarbeit nicht aufgeben wollte, kam sie körperlich sehr herunter. Sie verlor an Gewicht und ließ in ihrer Leistungsfähigkeit nach. Das zeigte auch die Leistungsprüfung am 13. und 14. VT. Hierbei mußten beide VTe. vorzeitig abgebrochen werden. Nach diesen Versuchen behauptete Vp., hinsichtlich ihres Befindens nicht mehr auf der Höhe zu sein wie vor einigen Wochen.

Die nächste Kontrolle (15. und 16. VT.) ließ erkennen, daß Vp. weiter nachgelassen hatte. An diesen VTn. hielt sie das Rechnen kaum 60 Minuten durch und das nur mit starker Anstrengung. Gegen Schluß flimmerten ihr die Zahlenbilder vor den Augen. Nach den Versuchen war sie erschöpft.

Infolge der anstrengenden Berufsarbeit und der in Hinsicht auf den erschöpften Zustand der Vp. mangelhaften Ernährung vermochte sie sich nicht zu erholen. Sie wurde daher 2 Wochen zur Erholung an den Rhein geschickt. Doch kehrte sie, wie sie behauptete, nicht erholt zurück. Das erkennt man auch an dem Ergebnis der Leistungsprüfung am 17. und 18. VT. Nur mit Mühe hielt Vp. an diesen Tagen das Rechnen 60 Minuten durch. Nach dem 18. VT. erklärte sie: „Ich weiß nicht, was mit mir los ist. Früher haben mir die Tropfen so gut geholfen, daß mir das Rechnen nicht viel ausmachte. Damals hätte ich noch viel länger rechnen können. Jetzt dagegen bin ich vollkommen abgespannt. Das geht mir bei meiner Arbeit ebenso."

Die Leistung (15,7) an diesen VTn. war im Vergleich zu derjenigen (24,5) vor Absetzen des Präparates um 36 % zurückgegangen. Es war nun nicht klar, ob dieser starke Rückgang lediglich erfolgte, weil das Präparat nicht mehr wirkte, oder ob das Auftreten des Karbunkels diese Wirkung vollkommen zunichte gemacht hatte, so daß Vp. fast wieder auf ihrem früheren Tiefpunkt angekommen war.

Um Klarheit zu schaffen, wurde daher mit den Progynongaben von neuem begonnen; nach dem 18. VT. erhielt Vp. wieder täglich 0,25 mg.

Die 4 Wochen später durchgeführte Leistungsprüfung (19. und 20. VT.) zeigte, daß Vp. ihren früheren Leistungshöhepunkt wieder erreicht hatte. Sie machte einen frischen Eindruck und erklärte vor Beginn dieser Ver-

suche spontan: „Ich fühle mich jetzt wieder wohl. Die Schlappheit und Müdigkeit, woran ich vor Wochen den ganzen Tag über litt, sind vorüber. Meine Arbeit macht mir keine Schwierigkeit mehr. Nach der Arbeit kann ich, ohne mich besonders anzustrengen, meinen Haushalt machen. In der letzten Zeit habe ich sogar mehrmals bis spät abends Wäsche geplättet. Dabei habe ich mich ganz frisch gefühlt. Ich war so munter, daß ich die Nächte hätte durcharbeiten können. Ich bin erstaunt, daß die Tropfen jetzt wieder so gut anschlagen, was noch vor 1 Monat nicht der Fall war." Die Versuchstätigkeit wurde mit Schwung aufgenommen und verlief, ohne daß Vp. sich stark anstrengte. Nach den Versuchen fühlte sie sich nicht abgespannt, obwohl die Versuchszeit 90 Minuten gedauert hatte. Ebenso verliefen auch die beiden folgenden Kontrollen, die noch unter der unmittelbaren Wirkung des Progynons gemacht wurden.

Nach dem 24. VT. erhielt Vp. wieder Leerpräparat. Der weitere Verlauf der VR. zeigte, daß Vp. ihre Leistungshöhe hielt. Der Verlauf der folgenden Leistungsprüfungen war im wesentlichen ebenso wie vor dem Absetzen des Präparates. Vp. behauptete bei jeder dieser Kontrollen, daß sie sich wohl fühle und mit ihrer Arbeit gut fertig würde.

Als die VR. 10 Monate nach Absetzen des Progynons abgeschlossen wurde, machte Vp. noch denselben frischen Eindruck, rechnete ebenso forsch und sicher und beteuerte ihr Wohlbefinden genau so wie während der Anwendung des Progynons. Auch 2 Monate nach Abschluß der VR. (also 1 Jahr nach Absetzen des Präparates) erklärte Vp. unaufgefordert, daß es ihr nun auch ohne Progynon in jeder Hinsicht noch unvermindert gut ginge.

2. Versuchsreihe 10.

Dauer 15 Monate; Versuchstätigkeit R_1; Dosis 0,25 mg Progynon.

E. P., 54 Jahre, verwitwet, Lagerverwalterin; von mittelkräftigem Körperbau und in ausreichendem Ernährungszustand. Ein krankhafter Befund lag nicht vor. Das Klimakterium war im 46. Lebensjahr eingetreten und ohne Beschwerden verlaufen. Seit einem Jahr fühlte sich Frau P. ständig müde und abgespannt und zwar in letzter Zeit zuweilen so stark, daß sie oft einer Ohnmacht nahe war. Ihre Berufsarbeit konnte sie nur mit Mühe schaffen. Sie war leicht reizbar und weinte oft bei der Arbeit, weil sie sich dieser nicht mehr gewachsen fühlte. Auch klagte sie über Blutandrang nach dem Kopf, über Schmerzen im Rücken und in den Beinen.

Die ersten 3 VTe., die ohne Präparat zwecks Bestimmung der Anfangsleistung durchgeführt wurden, fielen Vp. schwer. Sie hielt die Versuchszeit nur mit Mühe durch. Am 2. VT. wollte sie kurz vor Schluß den Versuch abbrechen. Nachdem der Versuch beendet war, begann sie vor Erschöpfung zu weinen. Sie erklärte: „Ich bin vollkommen fertig, das Rechnen hat mich so angestrengt, daß mir ein Kribbeln durch den ganzen Körper geht."

Nach dem 3. VT. erhielt Vp. Progynon. Als sie 2 Wochen später zur zweiten Leistungsprüfung erschien, behauptete sie: „Es geht mir jetzt

schon wesentlich besser. Die Hitzewellen, die durch die Tropfen während der ersten Tage des Einnehmens stärker auftraten, sind allmählich zurückgegangen. Meine Reizbarkeit hat nachgelassen. Auch fühle ich mich frischer. Ich merke deutlich, daß mir die Arbeit leichter fällt.“ Durch das Experiment wurden die Feststellungen der Vp. bestätigt. Obwohl die Versuchszeit auf das Doppelte der bisherigen Dauer verlängert worden war, stieg die durchschnittliche Minutenleistung um 53 %. (Das bedeutet, wenn man die absoluten Zahlen der gerechneten Aufgaben zugrunde legt, daß Vp. mehr als dreimal soviel geleistet hat als während der ersten 3 VTe.) Trotz dieser starken Leistungssteigerung ging das Rechnen mit weniger Anstrengung vonstatten als während der ersten Leistungsprüfung, was

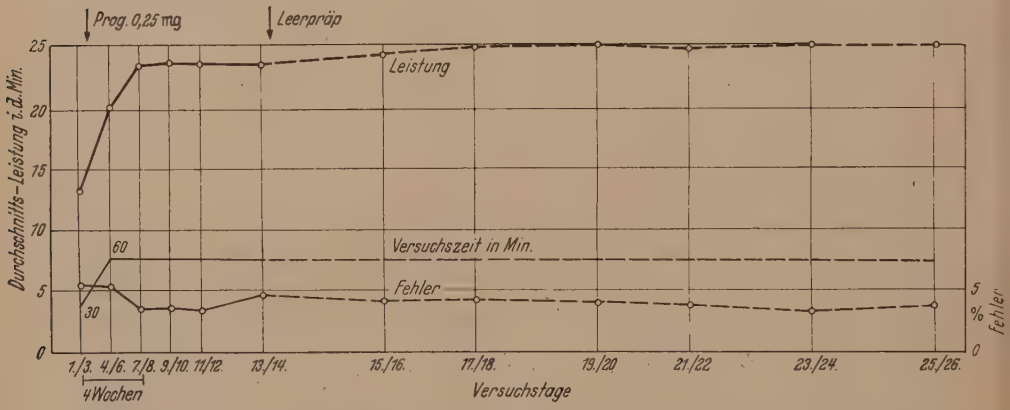


Abb. 10. Durchschnittliche Leistung während VR. 10. Dauer der VR. 15 Monate. Vp. E. P., 54jährige Frau. Leistungsverlauf bei Anwendung von täglich 0,25 mg Progynon ————, von Leerpräparat — — — —. Die Leistungskontrollen erfolgten bis zum 18. VT. alle 2 Wochen, danach in größeren Zeitabständen.

auch Vp. nach den Versuchen versicherte. Die dritte Leistungskontrolle (7. und 8. VT.) zeigte ebenfalls einen beträchtlichen Anstieg. Das Rechnen fiel Vp. an diesen VTn. noch leichter als bei der zweiten Kontrolle. Ihr Befinden hatte sich weiter gebessert. Die Hitzewellen traten nicht mehr auf; ebenso waren die Schmerzen in Rücken und Beinen verschwunden. Die Berufsarbeit vermochte sie gut zu schaffen. Ihre Stimmung war gut.

Mit dieser Leistungsprüfung hatte Vp. ihren Leistungshöhepunkt im wesentlichen erreicht. Die folgenden Kontrollen ließen keinen oder nur noch einen unbeträchtlichen Anstieg erkennen.

Nach dem 14. VT. erhielt Vp. Leerpräparat. Der weitere Verlauf der VR. zeigte, daß dadurch ihre Leistungsfähigkeit nicht beeinträchtigt wurde; denn sie hielt die erreichte Leistungshöhe nicht nur, sondern sie vermochte diese sogar noch ein wenig zu steigern. 10 Monate nach Absetzen des Präparates wurde die VR. abgeschlossen. Bis dahin sind die zu Anfang geklagten Beschwerden nicht wieder aufgetreten. Vp. betonte immer wieder ihren guten Gesundheitszustand und äußerte mehrmals ihr

Erstaunen darüber, daß sie ihre anstrengende Berufsarbeit so gut bewältigen könnte. Ungefähr 6 Monate nach Abschluß dieser VR. berichtete Frau P. dem Vl., daß es ihr immer noch tadellos ginge.

Die VRn. 9 und 10 haben gezeigt, daß 9 Monate nach Absetzen des Präparates die durch dieses erlangte Leistungsfähigkeit noch erhalten war. Ferner erklärten beide Vpn., mit denen diese VRn. durchgeführt worden sind, 6 Monate nach Abschluß der VRn. (also $1^1/_4$ Jahr nach Absetzen des Präparates), daß ihr Gesundheitszustand noch unvermindert gut sei. Es kann demnach angenommen werden, daß auch in diesen Fällen eine Dauerwirkung erreicht worden ist.

Wenn auch aus den Ergebnissen der beiden vorhergehenden, nach der veränderten Versuchsanordnung durchgeführten VRn. die günstige Wirkung der Keimdrüsenhormone eindeutig zu erkennen war, so haben wir doch, um jeden Zweifel auszuschließen, mehrere Kontrollreihen ausgeführt. Die Kontrollreihen erstreckten sich über 3 Monate und unterschieden sich von den anderen VRn. nur dadurch, daß statt des Hormonpräparates ein Leerpräparat verabreicht wurde.

Die folgenden VRn. 11 und 12 wurden mit zwei Personen durchgeführt, die beide in demselben Betrieb mit der gleichen Arbeit beschäftigt waren und die über die gleichen Beschwerden klagten. Mit der einen Vp. wurde eine Kontrollreihe durchgeführt, mit der anderen eine Progynonreihe wie VRn. 9 und 10.

Als Versuchstätigkeit verwandten wir in diesen beiden VRn. außer R_1 noch R_2, und zwar wurden mit R_1 alle 2 Wochen die üblichen Leistungsfeststellungen vorgenommen, alle 6 Wochen aber (später alle 12 Wochen) wurde zusätzlich noch ein VT. mit R_2 durchgeführt. Dies geschah hauptsächlich aus methodischen Gründen; es sollte beobachtet werden: 1. in welchem Verhältnis die Schwierigkeitsgrade beider Tätigkeiten zueinander stehen, 2. ob eine Leistungssteigerung bei R_1 auch eine solche bei R_2 zur Folge hat, ohne daß R_2 so oft ausgeführt wird wie R_1, 3. welche von beiden Tätigkeiten die Hormonwirkung am deutlichsten in Erscheinung treten läßt. Es sind zwar hierüber in besonderen Versuchen bereits Beobachtungen gemacht worden, doch fehlt noch der Vergleich in längeren VRn. Und dieser ließ sich in diesen VRn., ohne den Verlauf der Untersuchung zu stören, leicht mit durchführen.

3. Versuchsreihe 11 (Kontrollreihe).

Dauer 3 Monate; Versuchstätigkeit R_1 und R_2; Leerpräparat.

R. H., 40 Jahre, geschieden, 1 Kind, Hollerith-Locherin, mittelkräftige Frau in kaum ausreichendem Kräftezustand. Menstruation seit 6 Jahren unregelmäßig. Sonst lag ein krankhafter Befund nicht vor. Frau H. fühlte sich dauernd abgespannt. Ihre Berufsarbeit fiel ihr sehr schwer. Sie ermüdete rasch und konnte sich nicht konzentrieren, so daß sie bei ihren Lochungen oft Fehler machte. Infolgedessen fühlte sie sich ihrem Beruf nicht gewachsen, wodurch ihre Stimmung stark beeinträchtigt wurde.

Ein Überblick über die zahlenmäßigen Ergebnisse dieser VR. läßt erkennen, daß im Verlauf eines Vierteljahres der Übungsfortschritt bei beiden Versuchstätigkeiten so gering war, daß er kaum ins Gewicht fällt. Qualitativ ist bei R_1 eine deutliche Verbesserung ebenfalls nicht festzustellen, wohl aber bei R_2 eine Verschlechterung.

Das Verhalten der Vp. an den einzelnen VTn. entsprach den zahlenmäßigen Ergebnissen durchaus. Nur mit Mühe hielt sie die Versuchszeit durch, insbesondere zu Anfang. Aber auch an den späteren VTn. hatte sich daran nichts Wesentliches geändert. Am 1. VT. war die Anstrengung so groß, daß Vp. nach 15 Minuten für kurze Zeit aussetzte, indem sie erklärte, bei ihr drehe sich alles. Am Schluß des VT. war sie vollkommen abgespannt. Der 2. VT. verlief ähnlich. Besonders schwierig war der

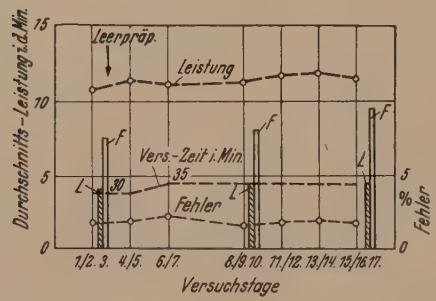


Abb. 11. Durchschnittliche Leistung während VR. 11 (Kontrollreihe). Dauer der VR. 3 Monate. Vp. R. H., 40jährige Frau. Leistungsverlauf bei Anwendung von Leerpräparat — — — —. Die Leistungskontrollen sind alle zwei Wochen durchgeführt worden. Die Ergebnisse der Versuchstätigkeit R_2, die in dieser VR. neben R_1 angewandt worden ist, sind durch senkrechte Säulen dargestellt, und zwar gibt die gestrichelte die Durchschnittsleistung, die ungestrichelte den Fehlerprozentsatz an.

3. VT. mit R_2 und zwar deshalb, weil Vp. die Ergebnisse der Einzelaufgaben nicht behalten konnte. Oft mußte sie Aufgaben zweimal rechnen. Gegen Schluß des Versuchs war die Arbeitsweise quälend. Vp. stöhnte oft und machte Pausen. Nach dem Versuch war sie erschöpft.

Während der zweiten Leistungsprüfung war das Rechentempo schneller als während der ersten, die Anstrengung der Vp. aber hatte sich nicht verringert. Sie sagte am Schluß des 5. VT.: „Heute war es nicht viel anders als sonst. Ich mußte mich sehr anstrengen, um bis zum Ende durchzuhalten."

Am 6. VT. wurde versucht, die Versuchszeit auszudehnen. Eine Verlängerung von 5 Minuten war das Äußerste, was der Vp. zugemutet werden konnte. Die folgende Kontrolle (8.—10. VT.) verlief ebenso wie die vorhergehenden. Ein Nachlassen der Anstrengung war nicht zu beobachten. Vp. behauptete sogar, sie habe sich „mehr anstrengen müssen als das letzte Mal". Am anstrengendsten war wieder R_2 am 10. VT.

Die weiteren Leistungskontrollen verliefen nicht wesentlich anders als die bisherigen. Ein Nachlassen der Anstrengung, wie es normalerweise durch Übung längst eingetreten sein müßte, ist nicht beobachtet worden. Stets klagte Vp., daß sie sich habe sehr zusammennehmen müssen, um die Versuchszeit durchzuhalten. So erklärte sie am Schluß des 16. VT.:

„Es war wieder sehr anstrengend. Dadurch bin ich so müde, daß ich sofort einschlafen könnte. Das geht mir auch bei meiner Arbeit so."

Recht mühevoll war wieder R_2 am 17. VT. Gegen diese Tätigkeit hatte Vp. starke Abneigung, was sie mehrmals zum Ausdruck brachte. Nach solchen VTn. war die Abspannung am stärksten.

Schon in der zweiten Hälfte der VR. hatte Vp. verschiedentlich behauptet, sie fühle sich noch nicht besser, und sie sei dauernd noch ebenso müde und abgespannt wie früher. Trotz dieser Erfahrung hatte sie die Versuche nicht aufgegeben. Sie sah nämlich den Erfolg der Hormontherapie bei ihrer Kollegin (Vp. in VR. 12), mit der sie täglich zusammen war. Als mit dem 17. VT. diese VR. abgeschlossen wurde, erklärte sie, ihr Zustand sei immer noch gleich schlecht.

Anschließend an diese VR. sollte mit Frau H. eine Progynonreihe durchgeführt werden. Leider mußte dies aufgeschoben werden, da Vp. mit dringenden Familienangelegenheiten so stark in Anspruch genommen wurde, daß sie für die Versuche keine Zeit erübrigen konnte.

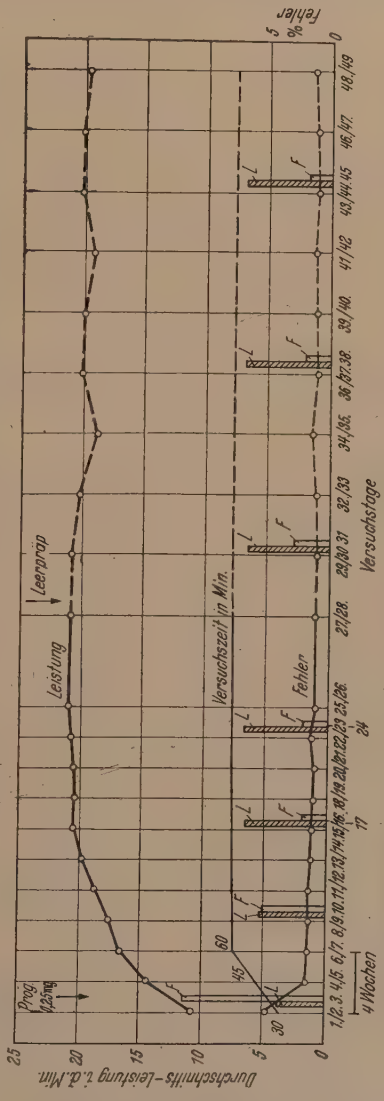


Abb. 12. Durchschnittliche Leistung während der VR. 12. Dauer der VR. 17 Monate. Vp. J. K., 41jährige Frau. Leistungsverlauf bei Anwendung von täglich 0,25 mg Progynon ———, von Leerpräparat — — —, Die Ergebnisse der Versuchstätigkeit R_2 sind durch senkrechte Säulen dargestellt, die gestrichelte gibt die Durchschnittsleistung an, die ungestrichelte den Fehlerprozentsatz. Die Leistungskontrollen sind bis zum 25. VT. alle zwei Wochen, danach in größeren Zeitabständen durchgeführt worden.

4. Versuchsreihe 12.

Dauer 17 Monate; Versuchstätigkeit R_1 und R_2; Dosis 0,25 mg Progynon.

J. K., 41 Jahre, geschieden, Hollerith-Locherin; mittelkräftige Frau in ausreichendem Ernährungszustand. Vor 8 Jahren Bauchhöhlenschwangerschaft. Bei dem hierdurch notwendigen operativen Eingriff wurde auch ein Ovar entfernt. Danach keine Beschwerden. Gegenwärtig lag ein krankhafter Befund nicht vor. Menstruation regelmäßig, aber gering. Frau K. klagte über dauernde Abgespanntheit, rasche Ermüdbarkeit und mangelhafte Konzen-

trationsfähigkeit. Ihre Berufsarbeit schaffte sie nur mit großer Mühe. Nach Betriebsschluß war sie meistens erschöpft. Sie fürchtete eine Verschlimmerung dieses Zustandes und war deshalb um ihre Arbeitsfähigkeit besorgt. Infolgedessen war sie oft gedrückter Stimmung.

Die Ausgangsleistung war in dieser VR. bei beiden Versuchstätigkeiten ungefähr ebenso hoch wie in der vorhergehenden. Auch der Verlauf des Rechnens während der ersten 3 VTe. unterschied sich von dem zu Anfang der VR. 11 nicht wesentlich. Vp. K. hatte ebenso wie Vp. H. große Mühe, die Versuchszeit durchzuhalten. Sie klagte nach jedem VT. über starke Abspannung, ganz besonders nach R_2 am 3. VT. Bei dieser Tätigkeit mußte sie sich gegen Schluß immer wieder zusammenreißen, um den Versuch nicht vorzeitig abzubrechen. Die starke Anstrengung am 3. VT. kam auch in dem recht hohen Fehlerprozentsatz zum Ausdruck.

Nach dem 3. VT. erhielt Vp. Progynon. Schon die nächste Leistungsprüfung (4. und 5. VT.) 2 Wochen später zeigte einen starken Leistungsanstieg und eine erhebliche Qualitätsverbesserung (Abfall der Fehlerkurve). Da Vp. am 4. VT. mit deutlich geringerer Anstrengung rechnete als an den ersten VTn., wurde die Versuchszeit auf 45 Minuten erhöht. Diese Verlängerung wurde ohne Schwierigkeit geschafft. Gleich nach dem Versuch sagte Vp.: „Heute war es leichter als an den ersten Tagen. Ich glaubte schon, ich hätte heute leichtere Aufgaben gerechnet. Auch im Büro brauche ich mich weniger anzustrengen. Das merke ich besonders deutlich am Nachmittag. Früher machte mir in dieser Zeit das Lochen große Schwierigkeiten, ich mußte mich sehr zusammennehmen, um meine Arbeit einigermaßen zu schaffen. Jetzt geht es leichter. Ich bin darüber sehr verwundert, denn ich habe die Medizin doch erst kurze Zeit genommen."

Die folgende Leistungskontrolle (6. und 7. VT.) ließ ebenfalls einen beträchtlichen Anstieg erkennen, ebenso auch die vierte (8.—10. VT.). Die am 6. VT. auf 60 Minuten erhöhte Versuchszeit wurde ohne Schwierigkeit durchgehalten. Am 9. VT. (6 Wochen nach Beginn der Hormontherapie) erklärt Vp. unaufgefordert: „Ich fühle mich jetzt bedeutend wohler als früher. Mein Schlaf ist gut, er ist tiefer als sonst. Tagsüber bin ich frisch und schaffe meine Arbeit gut. Ich bin bestimmt viel leistungsfähiger als vor der Behandlung." Das drückte sich auch in der R_2-Leistung am 10. VT. aus. Die Durchschnittsleistung hatte eine Steigerung von 37 % erfahren, während der Fehlerprozentsatz auffallend stark zurückgegangen war. Wenn auch die Anstrengung, die Vp. bei der Durchführung dieser Tätigkeit aufzuwenden hatte, beträchtlich war, so war sie doch längst nicht so groß wie am 3. VT. Außerdem muß in Betracht gezogen werden, daß die Versuchszeit am 10. VT. doppelt so lang war als am dritten. Dann tritt der Fortschritt, der sich in der am 10. VT. erlangten Leistung ausdrückt, noch stärker hervor.

Mit der Leistungsprüfung am 15., 16. und 17. VT. war die Steigerung in der Hauptsache abgeschlossen, auch bei R_2. Die weiteren Kontrollen

zeigten keine wesentlichen Veränderungen. Von nun an fanden die Kontrollen in vierwöchentlichen Abständen statt.

Am 25. VT. sagte Vp. spontan u. a. zum Vl.: „Ich freue mich, Ihnen sagen zu können, daß ich mich trotz meiner anstrengenden Arbeit an der Lochmaschine jetzt dauernd frisch und munter fühle. Obwohl bei uns ein scharfes Arbeitstempo herrscht, bin ich abends, wenn ich nach Hause komme, nicht müde. Ich kann dann ohne Schwierigkeiten noch meinen Haushalt in Ordnung bringen, was mir früher sehr schwer fiel. Jetzt macht es mir nichts aus."

Nach dem 28. VT. wurde Leerpräparat verabreicht. Der weitere Verlauf der VR. zeigte, daß die Leistung zeitweise ein wenig nachließ, doch war der Rückgang so gering, daß er kaum ins Gewicht fällt. Die auffällige Schwankung am 34. und 35. VT. fiel in eine Zeit, in der Vp. mit schweren Sorgen zu kämpfen hatte. Im wesentlichen ist die durch Progynon erlangte Leistungshöhe gehalten worden. Wohl wurde an manchen VTn. angestrengter gerechnet als an anderen, doch ist dies hauptsächlich auf Dispositionsschwankungen zurückzuführen, mit denen immer gerechnet werden muß. Mit ihrem Befinden war Vp. auch nach Absetzen des Präparates zufrieden. Am 51. VT. sagte sie: „Mir geht es tadellos. Irgendwelche Beschwerden habe ich nicht. Ich fühle mich frisch und schaffe meine Arbeit gut." Ähnliches hat sie während der letzten Monate öfter geäußert.

Nachdem die Versuche 10 Monate mit Leerpräparat durchgeführt worden waren und sich an der Leistungsfähigkeit und dem Befinden der Vp. nichts Wesentliches geändert hatte, wurde die VR. abgeschlossen. 3 Monate danach behauptete Vp. immer noch, daß es ihr gut ginge.

Im Anschluß hieran soll noch kurz etwas Methodisches erörtert werden: nämlich der in den VRn. 11 und 12 mit durchgeführte Vergleich der beiden Versuchstätigkeiten R_1 und R_2. Die VRn. haben zu folgenden Feststellungen geführt:

1. R_2 ist wesentlich schwieriger als R_1, was von vornherein anzunehmen war. Doch war nicht vorauszusehen, daß der Unterschied hinsichtlich des Schwierigkeitsgrades so groß ist, wie er sich bei unseren Versuchen gezeigt hat. Wenn er auch nicht in Zahlen auszudrücken ist, so wird er uns doch durch die zahlenmäßigen Ergebnisse, die Aussagen der Vpn. und ihr Verhalten während der Tätigkeiten begreiflich gemacht.

R_2 ist auf die Dauer deshalb so anstrengend, weil das Rechnen der Doppelaufgaben eine außerordentlich starke Konzentration erfordert. Die Vp. muß nach dem Rechnen der einen Aufgabe das Ergebnis behalten und gleichzeitig die andere rechnen. Hierbei werden sehr oft die Teilergebnisse vergessen und zwar um so häufiger, je abgespannter die Vp. ist, m. a. W. je weniger sie sich konzentrieren kann.

2. Wurde in den bisherigen VRn. durch Hormonpräparate bei der Versuchstätigkeit eine deutliche Leistungssteigerung erreicht, so erklärten die Vpn. sehr bald, daß sie auch ihre Berufsarbeit mit geringerem Kraftaufwand als bisher schafften. Durch die Ergebnisse der VRn. 12 und 13 werden diese Aussagen gestützt; denn es hat sich gezeigt, daß die bei R_1 erreichte Leistungssteigerung nicht auf diese Tätigkeit beschränkt blieb, sondern sich auch auf R_2 auswirkte.

Man könnte geneigt sein, den Wert dieser Feststellung einzuschränken, indem man behauptet, beide Tätigkeiten seien ähnlich, infolgedessen sei zu erwarten, daß die Steigerung der einen auch eine solche der anderen bedeute. Die Erfahrung hat gezeigt, daß die Ähnlichkeit beider Tätigkeiten längst nicht so groß ist, wie es zunächst erscheint. Durch das Behalten der Einzelergebnisse stellt R_2 an die Vpn. noch vollkommen andere Ansprüche als R_1. Wer jemals beide Tätigkeiten ausgeführt hat, ist erstaunt über ihre Verschiedenheit.

3. Fragen wir uns nun, durch welche von beiden Tätigkeiten die Leistungsfähigkeit am besten erfaßt wird, so sprechen unsere Feststellungen zweifellos für R_2; denn diese stellt die stärkeren Anforderungen an die Konzentration, also an die psychische Fähigkeit, ohne die eine Leistung überhaupt nicht möglich ist.

5. Versuchsreihe 13 (Kontrollreihe).

Dauer 3 Monate; Versuchstätigkeit R_2; Leerpräparat.

H. Sch., 32 Jahre, Drogist; großer, schlanker, mittelkräftiger Mann in kaum ausreichendem Ernährungs- und Kräftezustand. Ein besonderer krankhafter Organbefund lag zur Zeit nicht vor. Herr Sch. klagte über starke Abgespanntheit.

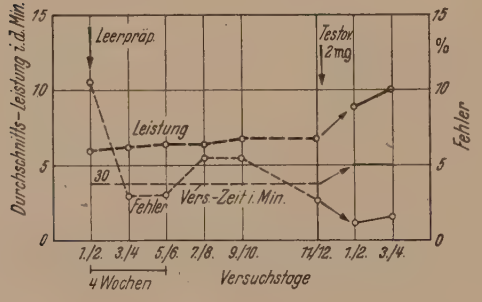


Abb. 13. Durchschnittliche Leistung während VR. 13 (Kontrollreihe). Dauer der VR. 3 Monate. Vp. H. Sch., 32jähriger Mann. Leistungsverlauf bei Anwendung von Leerpräparat — — — —, von täglich 2 mg Testoviron ————. Die Ergebnisse der abgebrochenen Hormonreihe sind mit eingezeichnet und der Anschluß an die Kontrollreihe durch Pfeile angedeutet. Die Leistungskontrollen sind möglichst alle 2 Wochen durchgeführt worden.

Obwohl er nachts gut schlief, fühlte er sich am Tage ständig müde, wodurch seine Leistungsfähigkeit im Beruf erheblich beeinträchtigt wurde. Er machte einen recht abgespannten Eindruck.

Die zahlenmäßigen Ergebnisse dieser VR. lassen ebenso wie die der VR. 11 nur einen außerordentlich geringen Übungsfortschritt erkennen.

Vp. rechnete am 1. VT. mit starker Anstrengung. Da sie die Teilergebnisse schlecht behielt, sprach sie den ganzen Rechenvorgang laut aus. Trotzdem vergaß sie öfter die Teilergebnisse und mußte Aufgaben zweimal rechnen. In der zweiten Hälfte des VT. stöhnte sie wiederholt vor Anstrengung. Einige Minuten vor Beendigung des Versuchs fragte sie, einen tiefen Seufzer ausstoßend, nach dem Schluß. Nachdem das Schlußzeichen gegeben war, erklärte sie: „Jetzt bin ich vollkommen erledigt. Ich bin zum Umfallen müde." Als ihr daraufhin im Nebenraum ein Liegesofa angewiesen wurde, legte sie sich nieder und schlief sofort ein. Der 2. VT. verlief ähnlich.

Die zweite Leistungsprüfung 2 Wochen später unterschied sich in ihrem Verlauf von der ersten gar nicht. Nur mit Mühe, öfter nach dem Ende fragend, hielt Vp. die Versuchszeit durch. Nach den Versuchen

war sie so abgespannt, daß sie wieder einige Zeit ruhen mußte, bevor sie fortging. Die dritte Kontrolle (5. und 6. VT.) war nicht anders.

Vor der vierten Leistungskontrolle (7. und 8. VT.) hatte Vp. 2 Wochen Urlaub. Diesen verbrachte sie größtenteils bei Verwandten auf dem Lande, die übrigen Tage an der Ostsee. Die Versuche fanden 4 Tage nach der Rückkehr statt. Vp. behauptete, sich nicht erholt zu haben. Dies wurde durch das Experiment vollkommen bestätigt; denn am 7. VT. rechnete Vp. noch in demselben Tempo und ebenso angestrengt wie vor dem Urlaub. Schon während der ersten 10 Minuten mußten Aufgaben zweimal, gegen Schluß sogar dreimal gerechnet werden. Vp. hatte Mühe aufzuwenden, um die Versuchszeit durchzuhalten. Nach dem Versuch war sie vollkommen abgespannt und erklärte: „Heute war es außerordentlich anstrengend. Zuweilen war es mir, als ob ich nicht mehr weiterrechnen konnte." Der 8. VT. verlief ebenso anstrengend.

Die nächste Kontrolle (9. und 10. VT.) zeigte einen geringen Leistungsanstieg, der vor allem dadurch bedingt war, daß Vp. alle Kräfte anspannte, um endlich ein schnelleres Rechentempo zu erzielen. Am Schluß des 9. VT. behauptete sie, das Rechnen habe sie so angestrengt, daß sie gegen Ende des Versuchs hätte einschlafen können. In diesem Zustande habe sie oft die Aufgaben gar nicht aufgefaßt, wohl habe sie die Zahlen mechanisch gelesen, aber nichts damit anfangen können. Als sie am Schluß des 10. VT. aufgefordert wurde, noch etwas länger zu rechnen, lehnte sie dies mit den Worten ab: „Nein, es geht nicht mehr, ich habe vollkommen genug."

Da am 11. und 12. VT. eine Leistungssteigerung nicht stattfand und die Arbeitsweise der Vp. nicht anders war als an den bisherigen VTn., wurde die VR. abgeschlossen; denn es war nicht anzunehmen, daß eine Fortsetzung unter den gegebenen Bedingungen noch zu anderen Ergebnissen als den vorliegenden führen würde.

Trotz des erlebten „Mißerfolges" war Vp. bereit, die Versuche fortzusetzen. Es wurde nun eine richtige Hormonreihe angeschlossen, die leider nach 5 Wochen abgebrochen werden mußte, da Vp. aus zwingenden Gründen nicht mehr zu den Versuchen erscheinen konnte. Die tägliche Dosis betrug 2 mg Testoviron, die Versuchszeit 40 Minuten[1].

Schon aus den wenigen vorliegenden Ergebnissen dieser neuen VR. war deutlich zu erkennen, welch günstige Wirkung Testoviron auf die stark herabgesetzte Leistungsfähigkeit der Vp. Sch. ausübte. Der Leistungsanstieg gegenüber der Leistung am Ende der vorhergehenden Kontrollreihe betrug am 1. und 2. VT. der neuen VR. 31%, am 3. und 4. VT. sogar 50%. Auch rechnete Vp. nicht so angestrengt wie bisher, so daß die Versuchszeit auf 40 Minuten verlängert werden konnte. Nach dem 2. VT. stellte Vp. selber fest: „Wenn ich mich zeitweise auch stark anstrengen mußte, so ist es mir heute doch leichter gefallen als sonst."

[1] Die vorliegenden Ergebnisse sind in Abb. 13 mit eingezeichnet.

6. Versuchsreihe 14 (Kontrollreihe).

Dauer 3 Monate; Versuchstätigkeit R_2; Dosis Leerpräparat.

R. Ba., 30 Jahre, ledig, Trickfilmzeichnerin; 165 cm große, mittelkräftige Frau in ausreichendem Ernährungs- und Kräftezustand, Menstruation regelmäßig. Ein besonders krankhafter Organbefund war nicht zu erheben. Frl. Ba. klagte über Schmerzen im Kreuz, starke Menstruationsblutung, rasche Ermüdbarkeit und fühlte sich dauernd abgespannt. Sie war leicht reizbar und oft gedrückter Stimmung.

Wie Abb. 14 zeigt, ist auch im Verlauf dieser VR. nur ein unbedeutender Leistungsanstieg erreicht worden. Der Übungsfortschritt war demnach gering. Für Vp. Ba. war die Versuchstätigkeit während der ganzen VR.

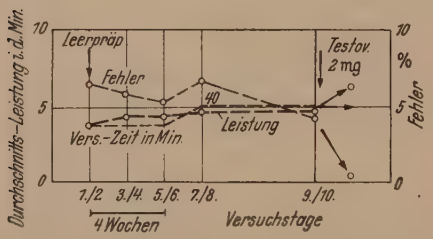


Abb. 14. Durchschnittliche Leistung während VR. 14 (Kontrollreihe). Dauer der VR. 3 Monate. Vp. R. Ba., 30jährige Frau. Leistungsverlauf bei Anwendung von Leerpräparat — — — —. Die Ergebnisse einer angeschlossenen, aber gleich nach Beginn abgebrochenen Hormonreihe sind durch Kreise angedeutet. Die Leistungskontrollen sind möglichst alle 2 Wochen durchgeführt worden.

schwierig. Sie rechnete am letzten VT. fast ebenso angestrengt wie am ersten. Wohl kam es vor, daß sie nach einigen VTn. nicht so abgespannt war wie nach anderen. Doch war ein allmähliches Nachlassen der Anstrengung, wie es normalerweise mit fortschreitender Übung zu sein pflegt, im Laufe der VR. nicht zu beobachten. Nach allen VTn. klagte Vp. über Abspannung. Die Verlängerung der Versuchszeit am 7. VT. machte ihr große Mühe; sie mußte sich sehr zusammennehmen, um die festgesetzte Zeit durchzuhalten. Eine erhebliche Erschwerung des Rechnens bestand für sie im Behalten der Teilergebnisse. Oft mußte sie Aufgaben mehrmals rechnen, und zwar häufte sich dies mit zunehmender Abspannung.

Da die Anstrengung während des Rechnens nach ungefähr 6 Wochen nicht geringer geworden war und Vp. auch sonst keine Änderung ihres Befindens feststellte, begann sie an der Wirksamkeit des Präparates zu zweifeln. Doch es genügte ein Appell an ihre Geduld, um sie zur Fortsetzung der Versuche zu bewegen. Aber nach dem 9. VT., der anscheinend besonders anstrengend gewesen war, erklärte sie wieder: „Ich merke immer noch nicht, daß mir die Hormontropfen geholfen haben. Mein Zustand ist jetzt noch ebenso wie er zu Anfang war." Mit dem 10. VT. hörte diese VR. auf.

Im Anschluß hieran sollte mit Vp. Ba. eine Hormonreihe durchgeführt werden. Leider sind wir hiermit nicht über den Anfang hinausgekommen; denn nach der ersten Leistungsprüfung mußte die VR. abgebrochen werden, da Vp. wegen Zeitmangels nicht mehr erscheinen konnte. Aber schon die eine Leistungskontrolle, die nach zweiwöchiger

Anwendung von täglich 2 mg Testoviron[1] stattfand, zeigte klar die Wirkung des Präparates. Die Ergebnisse dieser Feststellung sind in Abb. 14 mit dargestellt. Danach war die Leistung um 32 % gestiegen und der Fehlerprozentsatz auf fast Null gesunken.

Als Vp. zu den Versuchen erschien, sagte sie spontan: „Ich stelle fest, daß es mir in letzter Zeit besser geht." Der Unterschied zwischen dem Leerpräparat und dem richtigen hinsichtlich der Wirkung war ihr aufgefallen; denn sie fragte, ob das letzte Fläschchen höher dosiert gewesen sei als die vorhergehenden. Sie habe jedenfalls den deutlichen Eindruck, daß es besser wirke als alle anderen. Das Rechnen verlief während dieser VTe. nicht nur weniger anstrengend als bisher, sondern auch sicherer. Kam eine falsche Lösung vor, so wurde sie fast immer erkannt und berichtigt. So wurde am 1. VT. dieser neuen VR. gar kein, am zweiten nur ein Fehler festgestellt. Trat früher die Anstrengung bereits nach 10 Minuten deutlich in Erscheinung, so wurde sie jetzt erst nach 30 Minuten beobachtet. Auch Vp. war aufgefallen, daß sie weniger angestrengt gerechnet hatte als sonst.

7. Versuchsreihe 15.

Dauer 12 Monate; Versuchstätigkeit R_2; Dosis 0,25 mg Progynon.

G. Bl., 39 Jahre, verheiratet, 3 Kinder, früher Kontoristin; großer, mittelkräftiger Körperbau, ausreichender Ernährungs- und Kräftezustand. Menstruation

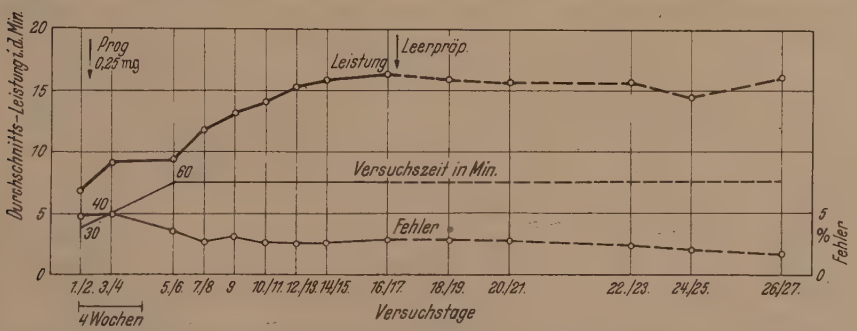


Abb. 15. Durchschnittliche Leistung während VR. 15. Dauer der VR. 12 Monate. Vp. G. Bl., 39jährige Frau. Leistungsverlauf bei Anwendung von täglich 0,25 mg Progynon ————, von Leerpräparat — — — —. Die Leistungskontrollen fanden bis zum 14. VT. alle zwei Wochen, danach in größeren Zeitabständen statt.

regelmäßig und ohne Beschwerden. Ein krankhafter Organbefund lag nicht vor, Frau Bl. fühlte sich sehr schlapp; obwohl sie gut schlief, war sie ständig müde, behauptete, Tag und Nacht schlafen zu können. Sie hatte vor 4 Monaten eine Stellung als Lohnbuchhalterin angenommen, mußte diese aber nach 2 Monaten wieder aufgeben, da sie vor Abgespanntheit und Müdigkeit nicht richtig arbeiten konnte. Sie klagte ferner über mangelhafte Konzentrationsfähigkeit und schlechtes Gedächtnis. Sie verstand nicht mehr zu disponieren und schaffte infolgedessen kaum die Hausarbeit. Über ihren Zustand war sie sehr bedrückt.

[1] Im weiteren Verlauf der VR. sollte Testoviron statt Progynon verabreicht werden.

Während der beiden ersten VTe., die bekanntlich zur Feststellung der Ausgangsleistung dienten, rechnete Vp. sehr angestrengt, besonders gegen Schluß. Oft wurden die Teilergebnisse vergessen, so daß Aufgaben zweimal gerechnet werden mußten. Die Anstrengung gegen Ende des 1. VT. war so stark, daß Vp. „alles durcheinander ging". Der zugehörige 2. VT. verlief ebenso. Ein Übungsfortschritt, der normalerweise gewöhnlich am deutlichsten vom 1. zum 2. VT. in Erscheinung tritt, war nicht festzustellen. Nach dem 2. VT. war Vp. ebenso abgespannt wie am ersten. Über den Verlauf sagte sie selber: „Es war heute wieder sehr anstrengend und zwar schon gleich, nachdem ich angefangen hatte, ganz besonders aber zuletzt. Gegen Schluß ging mir alles durcheinander. Oft zählte ich zu, wenn ich abzuziehen hatte und zog ab, wenn zugezählt werden mußte. Ich habe mich sehr zusammennehmen müssen, um durchzuhalten." Nach dem 2. VT. erhielt Vp. täglich 0,25 mg Progynon.

Ein gänzlich anderes Ergebnis zeigte bereits 2 Wochen später die zweite Leistungsprüfung. Bevor der Versuch am 3. VT. begann, behauptete Vp.: „Ich fühle mich schon wohler. Das bilde ich mir nicht etwa ein, sondern ich habe es deutlich an mir beobachtet. Auch mein Appetit ist stärker geworden." Das Versuchsergebnis sprach für die Angaben der Vp. Die durchschnittliche Leistung war um 33 % gestiegen, obwohl die Versuchszeit auf 40 Minuten verlängert worden war. Die Verlängerung wurde vorgenommen, weil Vp. zu Beginn des 3. VT. mit einem erheblich schnelleren Tempo einsetzte als an den ersten VTn. und dieses Tempo unvermindert 30 Minuten lang durchhielt. Die längere Versuchszeit ließ die Anstrengung zwar ansteigen, doch wurde der Versuch gut durchgehalten. Der 4. VT. war anstrengender als der dritte, denn in der vorhergehenden Nacht hatte Vp. 4 Stunden im Luftschutzkeller zubringen müssen.

Die dritte Leistungskontrolle (5. und 6. VT.) wies keinen Anstieg auf. Der Grund hierfür ist in der erheblichen Verlängerung der Versuchszeit (auf 60 Minuten) zu suchen. Diese glaubten wir der Vp. zumuten zu können, weil sie am 5. VT. nach 30 Minuten plötzlich ausrief: „Es geht prima, es strengt mich gar nicht an." Nach 40 Minuten setzte dann die Anstrengung ein und ließ das Tempo langsamer werden. Am 6. VT. begann Vp. mit einem sehr flotten Tempo, wurde aber nach und nach langsamer, bis sie nach 30 Minuten das Leistungsminimum dieses VT. erreicht hatte. Danach rechnete sie allmählich wieder schneller, so daß während der letzten 20 Minuten das Ausgangstempo übertroffen wurde. Als das Schlußzeichen gegeben war, behauptete Vp., daß Rechnen gehe jetzt so gut, daß sie noch weitermachen könnte. Ferner gab sie an, in den letzten Wochen 2 kg an Körpergewicht zugenommen zu haben.

Die folgende Kontrolle (7. und 8. VT.) ließ wieder eine erhebliche Steigerung erkennen. Vor Beginn des 7. VT. erklärte Vp.: „Es geht mir besser, ich fühle es jetzt deutlich. Ich merke, daß ich größere Lust zur Arbeit habe. An Gewicht habe ich auch wieder zugenommen." Sie rechnete

an beiden VTn. recht flott und sicher und wurde gegen Schluß kaum langsamer.

Die fünfte Leistungsprüfung (9. VT.) bestand nur aus einem VT. Der zugehörige andere VT. konnte besonderer Umstände halber nicht durchgeführt werden. Vor dem 9. VT. berichtete Vp. unaufgefordert: „Daß es mir besser geht, fällt jetzt nicht nur meinen Angehörigen, sondern auch schon Fernerstehenden auf. Ich bin in letzter Zeit mehrmals von Bekannten deswegen gefragt worden."

Sowohl die fünfte als auch die folgenden Leistungsfeststellungen zeigten Steigerungen, die erwartungsgemäß ständig geringer wurden. Trotz der Leistungssteigerungen verlief das Rechnen mit geringerem Kraftaufwand als während der ersten VTe., was auch Vp. immer wieder feststellte. Es war auffällig, daß an den meisten VTn. gegen Schluß nicht wesentlich langsamer gerechnet wurde als zu Anfang. Durch diese Feststellung wurde die Behauptung der Vp. gestützt, daß die rasche Ermüdbarkeit nachgelassen hätte.

Fast bei allen folgenden Leistungsprüfungen hob Vp. ihr allmählich besser werdendes Befinden hervor. Sie behauptete auch, daß die Libido, die bei ihr mit zunehmender Abspannung nachgelassen hatte, stärker geworden sei.

Nach dem 15. VT. wurde Leerpräparat verabreicht. Der weitere Verlauf der VR. zeigte, daß die erreichte Leistungshöhe gehalten wurde. Die stärkere Schwankung der Leistung während der vorletzten Kontrolle (24. und 25. VT.) ist darauf zurückzuführen, daß Vp. in der Woche vor diesen VTn. aus zwingenden Gründen dauernd sehr wenig Schlaf bekam. Sie behauptete, daß ihr Befinden nicht schlechter sei als sonst, sie fühle sich zur Zeit lediglich nicht ausgeschlafen. Die letzte Leistungsprüfung ließ wieder die frühere Leistungshöhe erkennen.

Es ist nicht beobachtet worden, daß nach Absetzen des Präparates mit stärkerer Anstrengung gerechnet wurde als vorher. Die VTe. verliefen ähnlich wie unter der unmittelbaren Wirkung des Progynons. Vp. behauptete auch nach wie vor, daß es ihr gut ginge und sie mit ihrer Arbeit gut fertig würde.

Nachdem 7 Monate nach Absetzen des Präparates bei der Vp. weder eine Veränderung der Leistungsfähigkeit noch eine Verschlechterung des Befindens festzustellen war, wurde die VR. abgeschlossen.

8. Versuchsreihe 16.

Dauer 13 Monate; Versuchstätigkeit R_2; Dosis 0,35 mg Progynon.

A. v. R., 35 Jahre, verheiratet, Stenotypistin; mittelgroße Frau in ausreichendem Ernährungs- und Kräftezustand; infolge früherer beiderseitiger Eierstockentzündung Sterilität, Menstruation bis vor 4 Monaten normal, seitdem unregelmäßig und schmerzhaft. Sonst lag ein organisch krankhafter Befund nicht vor. Frau v. R. klagte über häufige starke Kopfschmerzen und nahm, um arbeiten

zu können, in letzter Zeit fast täglich Analgetica. Auch fühlte sie sich bei der Arbeit müde und abgespannt, in besonders hohem Maße eine Woche vor und nach der Menstruation, wodurch ihre Arbeitsfähigkeit sehr beeinträchtigt wurde. Da Frau v. R., die einen zielbewußten und gewissenhaften Eindruck machte, beruflich stark in Anspruch genommen war und meistens täglich 10—11 Stunden arbeitete, konnten die geklagten Beschwerden in Überarbeitung ihren Hauptgrund haben.

Vp. v. R. machte von vornherein keinen so abgespannten und erschöpften Eindruck wie die meisten unserer Vpn., und trotzdem fiel ihr das Rechnen an den beiden ersten VTn. schwer. Sie verrechnete sich oft, nahm sich besonders gegen Schluß sehr zusammen, um mit den Aufgaben zurechtzukommen, und sie atmete jedesmal auf, wenn die Versuchszeit herum war. Am Schluß dieser VTe. sagte sie selber, daß sie durch das Rechnen stark angestrengt sei; die Konzentration habe ihr Mühe gemacht,

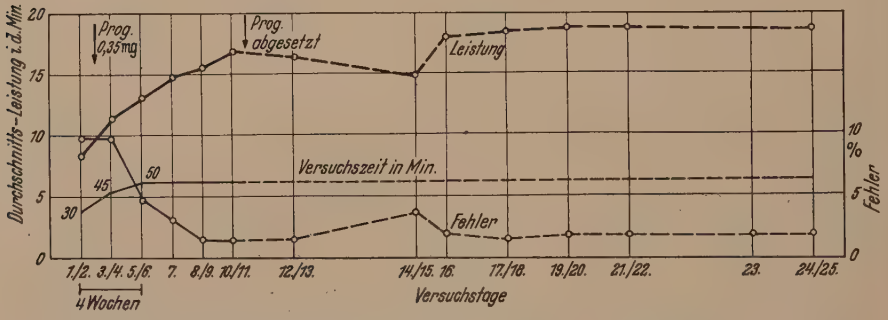


Abb. 16. Durchschnittliche Leistung während VR. 16. Dauer der VR. 13 Monate. Vp. A. v. R., 35jährige Frau. Leistungsverlauf bei Anwendung von täglich 0,35 mg Progynon ————, nach Absetzen des Präparats — — — —. Die Leistungskontrollen fanden bis zum 10. VT. alle 2 Wochen, danach in größeren Zeitabständen statt.

daher habe sie oft die Teilergebnisse vergessen. Nach den Versuchen war Vp. wohl angestrengt, doch nicht so abgespannt oder erschöpft wie die Vpn., mit denen die vorhergehenden VRn. durchgeführt worden sind.

Die tägliche Hormondosis wurde in diesem Fall um 0,1 mg erhöht gegenüber derjenigen, die in den vorhergehenden VR. gegeben wurden, und zwar deshalb, weil die frühere Entzündung der Ovarien uns dies zweckmäßig erscheinen ließ. Doch haben wir im Verlauf dieser VR. die Überzeugung gewonnen, daß wir mit einer geringeren Dosis unseren Zweck auch erreicht hätten.

Vor der zweiten Leistungsprüfung (3. und 4. VT.) behauptete Vp., „das eigenartige Gefühl im Kopf, welches das Konzentrieren so schwer machte", sei bereits gewichen. Sonst aber könnte sie keine wesentliche Veränderung ihres Zustandes feststellen. Das Experiment zeigte nun, daß Vp. an beiden VTn. auffallend schneller rechnete als an den VT. 1 und 2. Außerdem war an ihr eine geringere Anstrengung zu beobachten, was uns veranlaßte, die Versuchszeit auf 45 Minuten zu erhöhen. Dies wurde von

ihr ohne weiteres geschafft. Trotz der erheblichen Verlängerung der Versuchszeit stieg die Durchschnittsleistung um 32%. Nach den Versuchen war Vp. etwas müde.

Die dritte Leistungskontrolle (5. und 6. VT.) ließ ebenfalls einen beträchtlichen Anstieg erkennen. War der Fehlerprozentsatz während der zweiten Kontrolle noch ebenso hoch wie bei der ersten, so zeigte die dritte einen starken Abfall. Vp. rechnete an diesen VTn. auffallend flott und sicher und machte während des Rechnens keinen besonders angestrengten Eindruck.

Die längste Versuchsdauer ging im Verlauf dieser VR. nicht über 50 Minuten hinaus. Wir hielten in diesem Fall diese Zeit für ausreichend, da die Versuche in den Abendstunden durchgeführt wurden, nachdem Vp. 1 Arbeitstag mit Überstunden hinter sich hatte.

Nach dem 6. VT. erklärte Vp., daß sich ihr Zustand auffallend gebessert hätte; die Kopfschmerzen seien so erheblich zurückgegangen, daß sie nur noch selten Mittel dagegen zu nehmen brauchte.

Die vierte Kontrolle (7. VT.) mußte auf 1 Tag beschränkt werden, da sich Vp. wegen dringender Arbeiten einen zweiten Abend nicht freimachen konnte. Auch dieser VT. ließ eine deutliche Steigerung erkennen und außerdem eine Verminderung der Fehlerzahl. Zu Beginn dieses VT. meinte Vp., sie habe einen langen und sehr anstrengenden Arbeitstag hinter sich und würde infolgedessen wohl nicht so gut und lange rechnen können wie das letzte Mal. Das Experiment zeigte das Gegenteil; Vp. rechnete quantitativ und qualitativ besser. Außerdem machte sie keinen besonders angestrengten Eindruck. Es schien sogar, als könnte sie ohne Schwierigkeit noch länger als 50 Minuten rechnen.

Die nächste Leistungskontrolle (8. und 9. VT.) zeigte ebenfalls eine Verbesserung. Trotz ihrer langen Berufsarbeit rechnete Vp. recht forsch und sicher, zuweilen sogar mit einer gewissen Leichtigkeit. Nach den Versuchen erklärte Vp., daß im Gegensatz zu früher ihr nicht nur das Rechnen viel leichter falle, sondern daß es ihr auch sonst bedeutend besser ginge. Dies habe sich auf ihre Stimmung ausgewirkt, die jetzt durchweg gut sei.

Nach der sechsten Leistungsprüfung (10. und 11. VT.), die in jede. Hinsicht noch bessere Ergebnisse erkennen ließ als die fünfte, machte Vpr den Vorschlag, das Präparat abzusetzen und begründete es damit, daß sie mit ihrem Gesundheitszustand vollkommen zufrieden sei, sie fühle sich trotz ihrer vielen Arbeit frisch und leistungsfähig. Außerdem sei die letzte Menstruation wieder pünktlich und ohne Schmerzen eingetreten. Auf diesen Vorschlag gingen wir sofort ein.

Die siebente Kontrolle (12. und 13. VT.) zeigte die Leistung noch auf der bisherigen Höhe, während die achte (14. und 15. VT.) einen Rückgang aufwies. Diese Schwankung hatte ihren Grund hauptsächlich darin, daß

Vp. sich dringender Arbeiten wegen zu wenig Ruhe gegönnt hatte und in abgearbeiteterem Zustande als sonst zu den Versuchen kam. Während der neunten Leistungsprüfung (16. VT.) ging Vp. noch über ihre bisherige Leistungshöhe hinaus. Einen weiteren leichten Anstieg zeigte auch die nächste Kontrolle (17. und 18. VT.). Die damit erreichte Leistung wurde bis zum Schluß der VR. gehalten.

Das Absetzen des Präparates übte auf die Arbeitsweise der Vp. keine Veränderung aus. Vp. rechnete nach wie vor flott und sicher, ohne sich stärker anzustrengen als vorher. Ihren Aussagen nach war ihr sonstiges Befinden ebenfalls nicht verändert. Sie fühlte sich weiterhin frisch und leistungsfähig. Diese Tatsache wiegt besonders schwer, wenn man in Betracht zieht, daß während des letzten halben Jahres Vp. selten weniger als täglich 10 Stunden Berufsarbeit hinter sich hatte, wenn mit ihr die Versuche durchgeführt wurden.

10 Monate nach Absetzen des Präparates wurde die VR. abgeschlossen. 2 Monate später behauptete Vp., daß es ihr immer noch tadellos ginge.

IV. Gesamtergebnis der Versuchsreihen und Folgerungen daraus.

Auf Grund der vorliegenden VRn. ist zunächst die Frage nach der Wirkung der Keimdrüsenhormone auf die geistige Leistungsfähigkeit zu entscheiden.

Als Unterlagen stehen uns zur Verfügung die zahlenmäßigen Ergebnisse, die Beobachtungen über das Verhalten der Vpn. während der Versuchstätigkeit und die Aussagen der Vpn. selber. Hinsichtlich dieser Aussagen legten wir besonderen Wert auf spontane Berichte, da in diesen meistens das mitgeteilt wird, was den Vpn. am stärksten auffällt und am wichtigsten erscheint. Solche Berichte zu erhalten, war nicht schwer. Die meisten Vpn. berichteten gern über ihren Zustand, zuweilen so sehr ins Einzelne gehend, daß beschränkend eingegriffen werden mußte. Fragen wurden in der Regel nur dann gestellt, wenn wir notwendige Aufschlüsse durch den spontanen Bericht nicht erhielten.

Ein Überblick über die durchgeführten VRn. zeigt eindeutig die günstige Wirkung der Keimdrüsenhormone (Testoviron und Progynon) auf die geistige Leistungsfähigkeit. Die durch die Präparate im Verlauf der VRn. erreichte Leistungssteigerung ist in fast allen Fällen sehr erheblich. In den Hormonreihen ist fast durchweg gegenüber der Ausgangsleistung oder der durch Übung vor Anwendung des Präparates erlangten Höchstleistung eine Steigerung um das Doppelte und mehr erreicht worden.

Es taucht nun die Frage auf, ob diese starke Steigerung ausschließlich auf die Wirkung der Hormonpräparate zurückzuführen ist. Es wäre doch möglich, daß die Übung, welche die Vpn. im Verlauf der VRn. erlangt haben, einen beträchtlichen Anteil an dem Leistungsanstieg ausmacht.

Dieser Einwand ist bereits bei der Anordnung der VRn. berücksichtigt worden. Es sind nämlich im ersten Teil der VRn. 1—8 vor Anwendung der Hormonpräparate so lange Versuche mit Leerpräparat durchgeführt worden, bis der Übungshöhepunkt erreicht war. Und neben den VRn. ohne diese Vorübung (VRn. 9, 10, 12, 15, 16) liefen zum Vergleich Kontrollreihen mit Leerpräparat.

Eine derartige Versuchsanordnung müßte den Anteil der angewandten Präparate an der Leistungssteigerung erkennen lassen. Stützt man sich nun bei der Beurteilung dieser Steigerung lediglich auf die Ergebnisse der Versuche mit Leerpräparat, so scheint der Anteil der Übung hieran außerordentlich gering zu sein. Denn diese Versuche zeigen eindeutig, wie gering bei Personen mit herabgesetzter Leistungsfähigkeit der Übungsfortschritt ist. Bei normalen Personen verläuft die Übungskurve vollkommen anders. Das zeigen die VRn. 3 und 7. In beiden VRn. ist durch bloße Übung gegenüber der Ausgangsleistung eine Steigerung um fast das Doppelte erreicht worden. Worin liegt nun der geringe Übungsfortschritt unserer leistungsgeschädigten Vpn. gegenüber dem der normalen begründet?

Aus dem verschiedenen Verlauf der Übungskurven beider Gruppen darf man keinesfalls den Schluß ziehen, daß bei den Vpn. mit herabgesetzter Leistungsfähigkeit eine Übungsfähigkeit gar nicht oder nur in geringem Grade vorhanden ist. Übungsfähigkeit besitzen diese Personen ebenso wie die mit normaler Leistungsfähigkeit. Nur kann sich diese bei ihnen nicht auswirken, weil sie nicht den Kräfteeinsatz in dem Maße aufzubringen vermögen, wie ihn die Übung einer Tätigkeit erfordert.

Der Übungsfortschritt ist nämlich abhängig von der Konzentrationsfähigkeit, und zwar ist dieser bei einer Tätigkeit unter sonst gleichen Bedingungen um so größer, je stärker sich jemand auf diese zu konzentrieren vermag. Ist die Konzentrationsfähigkeit mangelhaft, so ist auch der Übungsfortschritt entsprechend gering.

Die Konzentrationsfähigkeit ist wiederum abhängig von dem seelischen und körperlichen Zustand eines Individuums. Je mangelhafter dieser Zustand ist, desto geringer ist auch die Konzentrationsfähigkeit. Das haben unsere Versuche deutlich gezeigt. Die Vpn., deren Erschöpfungszustand am stärksten war, vermochten sich am wenigsten auf ihre Tätigkeit zu konzentrieren und wiesen infolgedessen auch den geringsten Übungsfortschritt auf (vgl. besonders die VRn. 4, 6, 11, 13). Dies wurde sofort anders, als es gelang, den körperlichen Zustand durch Hormonpräparate günstig zu beeinflussen; die Konzentrationsgähigkeit wurde besser und damit der Übungsfortschritt stärker. Dieselben Vpn., die mit Leerpräparat keinen deutlichen Leistungsanstieg erringen konnten, erreichten ihn unter der Wirkung der Hormonpräparate auffallend schnell.

Wir sind daher durchaus der Ansicht, daß in dem starken Leistungsanstieg der Übungsfortschritt zweifellos mit enthalten ist. Nur müssen wir uns auch darüber klar sein, daß der Übungsfortschritt erst durch die Anwendung der Hormonpräparate möglich geworden ist. Letzten Endes ist also die erreichte Leistungssteigerung auf die Wirkung des zugefügten Hormons zurückzuführen.

Wäre es nicht möglich, daß außer der Übungsfähigkeit noch andere psychische Faktoren die Leistungssteigerung mit bedingt hätten? Diese Möglichkeit bestreiten wir nicht; nur gilt für diese Faktoren dasselbe, was wir in bezug auf die Übungsfähigkeit festgestellt haben. Während der Versuche mit Leerpräparat war eine Entfaltung dieser Faktoren kaum oder nur in sehr geringem Grade zu beobachten, dagegen entwickelten sie sich weit schneller, nachdem durch die Hormonpräparate Kräfte mobilisiert waren.

Ferner könnte eingewandt werden, die Leistungssteigerung sei weniger hervorgerufen durch das im Präparat enthaltene Hormon, als durch die suggestive Wirkung, die mittels des Präparates auf die Vp. ausgeübt würde. Daß derartiges in der Therapie nicht selten vorkommt, ist eine alte Erfahrung. Doch haben wir für unsere VRn. diese Möglichkeit durch die Versuche mit Leerpräparat ausgeschaltet (vgl. S. 267).

Während dieser Leerversuche haben auch wir festgestellt, daß Vpn. nach wenigen Tagen behaupteten, es ginge ihnen in mancher Hinsicht schon besser. Trotz dieser Behauptung zeigte die Leistungskurve keinen Anstieg. Außerdem wurde diese Angabe schon nach sehr kurzer Zeit wieder zurückgenommen und zwar meistens am Schluß eines VT., wenn diesen Vpn. klargeworden war, daß sie sich nach wie vor sehr zusammennehmen mußten, um die Versuchszeit durchzuhalten.

Wäre die suggestive Wirkung in unseren VRn. merkbar in Erscheinung getreten, so hätte sie sich auch in den Leerversuchen zeigen müssen; denn die Vpn. vermochten das Leerpräparat vom richtigen nicht zu unterscheiden. Eine Bedeutung hat sie also für unsere Versuchsergebnisse nicht gehabt.

Berücksichtigt man bei der Beurteilung unserer Versuchsergebnisse in der Hauptsache die zahlenmäßigen Resultate und beachtet weniger oder gar nicht die Aussagen der Vpn., so könnte man zu der Auffassung kommen, daß zwar die günstige Wirkung der Keimdrüsenhormone nicht angezweifelt werden kann, da diese sich in der Leistungssteigerung deutlich ausdrückt; doch sei immerhin zu bedenken, ob es sich nicht in diesem Falle lediglich um die Verbesserung einer bestimmten Tätigkeit handle, nicht aber um die Steigerung der Leistungsfähigkeit schlechthin.

Diese Bedenken entfallen sofort, wenn man die Aussagen in Betracht zieht, welche die Vpn. im Verlauf der VRn. über ihr Befinden gemacht haben. Aus diesen geht eindeutig hervor, daß eine Besserung des gesamten

seelischen und körperlichen Zustandes erreicht worden ist und damit auch eine Steigerung der Leistungsfähigkeit. Die Vpn. haben immer wieder betont, daß sie sich leistungsfähiger fühlten und ihre Berufsarbeit besser schafften als vor Anwendung der Hormonpräparate.

Daß nach mehrwöchiger Anwendung der Hormonpräparate die Vpn. auch wohler aussahen als vorher, ist nicht nur vom Vl. beobachtet worden, sondern das ist auch den Angehörigen und Arbeitskollegen der Vpn. aufgefallen. Die Folge davon war, daß im Laufe der Zeit für diese Versuche ein Überangebot an Vpn. bestand.

Auf Grund der bisherigen Erörterungen kommen wir zu der Feststellung, daß der Wirkungsgrad der von uns angewandten Hormonpräparate über den Rahmen, den wir uns in diesen Untersuchungen gesetzt hatten, hinausgeht. Es ist nicht nur eine günstige Beeinflussung der geistigen Leistungsfähigkeit erreicht worden, sondern auch der körperlichen, so daß man von einer Steigerung der Leistungsfähigkeit schlechthin sprechen kann.

Die Zeit vom Beginn der Hormontherapie bis zur ersten merkbaren Wirkung der Präparate ist individuell verschieden. Es scheint so, als ob manche Personen auf die Hormongaben leichter ansprechen als andere. Im allgemeinen kommt man auf Grund unserer Versuche zu der Feststellung, daß die Wirkung schon nach verhältnismäßig kurzer Zeit zu beobachten ist. Im Experiment zeigte sie sich meistens nach 2—5 Tagen, während die Vpn. selber sie erst nach 5—10 Tagen an sich deutlich spürten. Diese Feststellungen gelten selbstverständlich für die von uns verabreichten geringen Dosen.

Wenn auch die Frage nach der Dosierung der Hormonpräparate diesen Untersuchungen nicht zugrunde lag, so sind hierüber doch einige praktisch nicht unwichtige Feststellungen gemacht worden. Entsprechend unserem Versuchszweck, die Keimdrüsenhormone lediglich in ihrer Wirkung auf die herabgesetzte Leistungsfähigkeit zu untersuchen, kamen große Dosen überhaupt nicht zur Anwendung. Während der ersten zwei VRn. wurden täglich 4 mg Testoviron verabreicht. Als wir in den weiteren VRn. die Dosis auf 2,5 mg ermäßigten, war die günstige Wirkung nicht geringer. Sogar mit 1,5 mg (VR. 8) erzielten wir noch vollkommen ausreichende Wirkung. In VR. 4 konnten wir sogar nachweisen, daß die Leistungshöhe, die mit 2,5 mg erreicht worden war, durch die doppelte Menge nicht mehr gesteigert werden konnte. Wir haben also in diesem Falle mit der geringen Menge nicht weniger erreicht, als wir mit der größeren bezweckt hätten.

Obwohl die verabreichten Progynongaben als gering bezeichnet werden müssen, waren sie unter Berücksichtigung des Wirkungsgrades höher als die angewandten Testovirondosen. Wir sind aber auf Grund der vorliegenden und noch weiter unter anderen Gesichtspunkten mit Progynon

durchgeführten VRn. durchaus der Meinung, daß wir mit noch geringeren Dosen als den in unseren VRn. angewandten ebensolche Wirkungen erreicht hätten, wie wir sie durch unsere Versuche aufweisen konnten.

In bezug auf die Dosierung haben die vorliegenden Untersuchungen zum mindesten gezeigt, daß man mit kleinen Dosen Keimdrüsenhormon herabgesetzte Leistungsfähigkeit leicht beheben kann.

Wir haben nun noch die Frage nach der Dauer der Hormonwirkung zu beantworten.

Es liegt durchaus nahe anzunehmen, daß mit dem Absetzen eines Präparates auch seine Wirkung aufhört, meistens nicht unmittelbar danach, sondern eine bestimmte Zeit später. Die VRn. 3 und 7 zeigen die beschränkte Wirkungsdauer am deutlichsten. Das ist leicht erklärlich, denn in beiden Fällen handelte es sich um gesunde, voll leistungsfähige Vpn., deren endokrines System normal funktionierte. Durch die Zufuhr von Keimdrüsenhormon wurde bei diesen Vpn. die Leistungsfähigkeit auf einen außergewöhnlich hohen Grad gebracht, von dem sie aber allmählich wieder auf ihre frühere normale Höhe zurücksank, nachdem das Präparat abgesetzt worden war. Ähnlich war es in VR. 6 mit Vpn. M. V., einer Frau in der Menopause. In diesem Fall erfolgte kein so starker Rückgang wie in den VRn. 3 und 7.

In allen übrigen VRn. wurde die durch die Präparate erreichte Leistungshöhe bis zum Schluß der VR. gehalten. Die Zeitspanne zwischen dem Absetzen des Präparates und dem Schluß der VR. betrug im kürzesten Falle 7 Monate. In den meisten Fällen war diese Zeit sogar länger. Die in Betracht kommenden Vpn. haben auch nach Abschluß der VRn. von Zeit zu Zeit über ihr Befinden berichtet. Aus diesen Mitteilungen geht hervor, daß noch bei keiner ein merkbarer Rückgang der Leistungsfähigkeit stattgefunden hat. Die längste Zeit nach Absetzen des Präparates beträgt gegenwärtig etwas mehr als 2 Jahre, die kürzeste über 1 Jahr. Wir vermuten daher, daß bei diesen Vpn. eine Dauerwirkung erzielt worden ist. Daß es sich hierbei nicht um ein langdauerndes Training handeln kann, ist bereits erörtert worden (vgl. VR. 4).

Zu Anfang dieser Arbeit wurde die Möglichkeit in Betracht gezogen, daß die herabgesetzte Leistungsfähigkeit hervorgerufen sein könnte durch inkretorische Störungen, die ihres geringen Grades wegen klinisch noch nicht feststellbar seien. Diese Vermutung scheint durch unsere Untersuchungen als richtig erwiesen zu sein, denn da durch die Zuführung von Keimdrüsenhormon die Leistungsfähigkeit wieder normalisiert worden ist, kann dies nur durch Einwirkung auf das inkretorische System geschehen sein. Die erreichte Dauerwirkung ist also dadurch zu erklären, daß inkretorische Störungen behoben worden sind.

Die vorliegenden Versuche sind mit dem gleichgeschlechtlichen Hormon durchgeführt worden. Wie die Keimdrüsenhormone in heterologer Anwendung wirken, soll in einer weiteren experimentellen Untersuchung geprüft werden.

Zusammenfassung.

Die vorliegenden Untersuchungen führten zu folgenden Ergebnissen:

1. Die Keimdrüsenhormone wirken günstig auf die geistige Leistungsfähigkeit.
2. Es ist nicht nur eine Steigerung der geistigen Leistungsfähigkeit erreicht worden, sondern eine Steigerung der Leistungsfähigkeit schlechthin.
3. Über die Dosierung konnten noch keine abschließenden Feststellungen gemacht werden, doch konnte gezeigt werden, daß man mit kleinen Dosen Keimdrüsenhormon herabgesetzte Leistungsfähigkeit beheben kann.
4. Bei Personen mittleren Alters ist durchweg eine Dauerwirkung erreicht worden.
5. Die Dauerwirkung ist zurückzuführen auf Behebung inkretorischer Störungen durch Zufuhr von Keimdrüsenhormon.

Aus der II. Medizinischen Universitätsklinik der Charité.
(Direktor: Prof. Dr. med. G. von Bergmann.)

Vergleichende Untersuchungen über Azetylcholin und Bromcholinbromid.

Von

Hansjürgen Oettel.

Mit 5 Textabbildungen (6 Einzelbildern).

(Eingegangen am 7. April 1943.)

Die bekannte blutdrucksenkende Wirkung des Azetylcholins ist therapeutisch z. B. bei Kranken mit Hochdruck nicht ohne weiteres verwendbar, weil die Substanz durch die Azetylcholinesterase relativ rasch zerstört wird. Beobachtungen von Ammon haben gezeigt, daß verschiedene andere Verbindungen des Cholins, wie z. B. Bromcholinbromid, einer Spaltung durch die Esterase nicht unterliegen. Diese Ergebnisse wurden besonders von ihm dadurch belegt, daß Bromcholinbromid und weiterhin auch Carbaminoylcholinchlorid bei Zusatz des Ferments in der Warburg-Apparatur nachweislich nicht gespalten wurden. Die Zerfallstendenz eines anderen stabilisierten Cholinderivats, nämlich des Jodcholinjodids, scheint ebenfalls geringer zu sein als die des Azetylcholins*. Die Verwendbarkeit von Cholinkörpern erstreckt sich im wesentlichen auf die Möglichkeit der Blutdrucksenkung und das Vorhandensein von gefäßerweiternden Wirkungen. Hierbei ist von Gollwitzer-Meier seinerzeit gefunden worden, daß nur bestimmte Dosen von Azetylcholin auf die Coronargefäße verengernd wirken, daß jedoch auch größere Dosen eine Coronarerweiterung veranlassen, der eine kurzdauernde Verengerung vorausgehen kann. Da die vagusähnliche Wirkung des Azetylcholins an den Kranzgefäßen also keine überwiegende Bedeutung besitzt, könnten Wirkungen der Cholinkörper auch auf sympathische Geflechte vermutet werden. Die Blutdrucksenkung des Azetylcholins und anderer Cholinderivate richtet sich nach der Konzentration, der Dauer der Zufuhr und der Reaktionslage des Organismus. Sie beruht vermutlich auf einer Beeinflussung der Arteriolen, was für die Enge der peripheren Strombahn bei essentiellem

---

* Im Rahmen unserer Untersuchungen über Acetylcholin und andere Cholinderivate wurden uns auf unsere Bitte Bromcholinbromid und mehrere andere Verbindungen des Cholins liebenswürdigerweise von der Diwag überlassen, wofür wir hier unseren Dank aussprechen.

Hochdruck von besonderer Bedeutung sein müßte. Für eine solche Betrachtungsweise können auch die Beobachtungen von Stropeni und Battezzati sprechen, die durch eine Dauermedikation von Prostigmin in Dosen von dreimal täglich 7,5 mg oral erhebliche Blutdrucksenkungen herbeiführen konnten; diese Autoren sind der Meinung, daß eine Mehrung der Cholinesterase ätiologisch beim Hochdruck wirksam ist und somit unter Verminderung des Azetylcholingehalts der blutdrucksteigernden Einflußnahme des sympathischen Nervensystems maßgebend Raum gibt. Hochdruckfälle mit erniedrigtem Blutcholinspiegel beschrieben unter anderem Maxim und Vasiliu, die auch gerade bei biologischer Titration des Blutcholinspiegels eine entsprechende Hyperadrenalinämie bei Formen von blassem Hochdruck im Sinne Volhards zusätzlich beobachten konnten. Bohn hat diese Erörterungen dahingehend zusammengefaßt, daß es sich bei den auf den Blutdruck wirkenden Blutstoffen beim blassen Hochdruck zweifellos nicht um Adrenalin handelt. Von Enger und Mitarbeitern ist in niedermolekularen Stoffen vom Charakter des Nephrins in diesem eine Substanz gefunden worden, welche in eindeutiger Weise den Anämisierungsprozeß der Nieren in Gang hält und somit stete Neufreiwerdung von pressorisch wirksamen Substanzen vermittelt. Für eine Zunahme der im Blut zirkulierenden Cholinesterase gerade beim essentiellen Hochdruck haben sich besonders Stropeni und Battezzati ausgesprochen, die in vielen Fällen die Hypertension pathophysiologisch als Ausdruck einer Gleichgewichtsstörung zwischen der Bildung von Azetylcholin und Cholinesterase auffassen, womit naturgemäß das ens morbi noch nicht irgendwie fixiert ist. Im ganzen ist jedenfalls eine Blockierung der Cholinesterase oder in vielen Fällen vielleicht praktischer eine Darreichung von Substanzen mit lang dauernder Cholinwirkung imstande, eine wirksame Senkung des Blutdrucks zu vermitteln, wobei es offen bleibt, ob durch solches Vorgehen die vielleicht normale Dauersekretion der körpereigenen Substanzen von Cholincharakter wieder normalisiert wird.

Wir haben es aus vornehmlich therapeutischen Erwägungen unternommen, die Frage der Blutdrucksenkung nach Azetylcholin und dem länger wirkenden stabilisierten — der Esterasewirkung nicht unterliegenden — Bromcholinbromid vornehmlich experimentell zu betrachten und haben dabei auch die Vasodilatation nach Einwirkung der genannten Substanzen untersucht. Mitgeprüft wurden Allgemeinwirkungen auf Herz und Kreislauf, insbesondere Herzminutenvolumen, weiterhin Cholerese und Diurese; schließlich wurde die Einflußnahme auf die Atmung, die O_2-Verbrauchsgröße, den Blutzucker, die eventuell vorhandene Verbesserung der Durchblutung bestimmter Gefäßgebiete unter Berücksichtigung zentraler Wirkungen betrachtet.

Wegen der Frage des Angriffspunktes wurden Elektrolytverschiebungen im Serum mit untersucht.

Methodik.

Die Untersuchung der Blutdruckwirkungen erfolgte an insgesamt 45 Katzen in Chloralosenarkose, von denen der 3. Teil unter Intaktsein der Nervi vagi, das zweite Drittel nach Vagotomie, schließlich der dritte Teil bei intakten Vagi unter Hypophysindauerinfusion untersucht wurde; letzteres Vorgehen gestattet nach unseren Erfahrungen die Hervorrufung ebenfalls einer allgemeinen Verengerung der Arteriolen, wie sie wohl bei essentiellem Hochdruck pathogenetisch vorliegt. Bei diesen Versuchen wurden Atmung und Diurese mitregistriert; die Harnabscheidung wurde durch Tropfenzähler und zusätzlich vermittels eines Flüssigkeitsschreibers nach Condon fixiert.

Untersuchungen an Menschen und Hunden sollten Aufschluß über die mögliche Beeinflussung des EKG. und anderer Veränderungen geben.

Für die Beeinflussung der Herztätigkeit wurde am intakten Tier eine gleichzeitige Prüfung von Blutdruck, Vorhofdruck, Coronardurchblutung und Minutenvolumen durchgeführt. Die Messungen geschahen mit der Thermostromuhr nach Rein, wobei Hinweise auf die Minutenvolumina sich aus Änderungen der Durchblutungsgröße der Vena cava superior und inferior ergaben. Zur Betrachtung der Durchblutungsgröße einzelner Gefäßgebiete wurden in 10 Versuchen an Hunden die Cerebraldurchblutung vermittels Durchströmungsmessung der Carotis interna, die Durchblutungsgröße der Mesenterialarterien und der Coronararterien gemessen. In gesonderten Versuchen an 15 Ratten gelangten die Menge der abgeschiedenen Galle und die Größe der Harnabscheidung zur Untersuchung. Für die Messung des O_2-Verbrauchs wurde an 8 Patienten mit Hilfe des Gaswechselschreibers nach Rein laufend die Ausatmungsluft bezüglich ihres Minusgehalts an Sauerstoff und ihres Plusgehalts an Kohlensäure untersucht. Etwaige vorhandene Abweichungen des Blutzuckers und des Elektrolytgehalts des Serums geschahen an Patienten, desgleichen wurden nach Darreichung der zu prüfenden Substanzen Blutbildkontrollen und Bestimmungen von Gesamteiweiß, Albumin und Globulin im Serum vorgenommen.

Darlegung der Untersuchungsergebnisse.

Von den Befunden darf zunächst eine Schilderung der nicht eindeutig veränderten Größen gegeben werden, um die vorliegenden Daten, die sich als positive Ergebnisse besonders im Sinne von Blutdrucksenkung und Vasodilatation zusammenfassen lassen, übersichtlich am Schluß zu schildern.

Zunächst darf festgestellt werden, daß Bromcholinbromid bei oraler Applikation in Dosen von 3—4mal 6 mg pro die am Menschen deutlich wirksam ist, während gleiche Dosen von Azetylcholin keine eindeutigen Veränderungen vermitteln. Die orale Wirksamkeit unterscheidet also eindeutig das Azetylcholin vom Bromcholinbromid.

1. Befunde am EKG.

Darreichungen von 3—4mal 0,5 mg Azetylcholin am Menschen pro Tag i. m. verursachen in einigen Fällen Senkungen der ST. — Strecken im Sinne einer Änderung des Erregungsrückgangs — wie sie bei vagotropen Stoffen bekannt ist. Nach oralen Gaben von 4mal 6 mg Bromcholinbromid oder 2—3mal 10 mg dieser Substanz i. m. bleiben EKG.-Veränderungen im allgemeinen beim Menschen aus.

2. Einfluß auf die Durchblutungsgröße einiger peripherer Stromgebiete.

Azetylcholin in Dosen von 3mal 0,5 mg subcutan oder i. m. läßt subjektiv beim Menschen deutlich eine Besserung von angiospastischen Beschwerden (Migräne, Dysbasia intermitens) erkennen. Dies gilt auch für Verabfolgungen von 4mal 6 mg Bromcholinbromid oral oder 2—3mal 10 mg Bromcholinbromid subcutan oder i. m. Objektiv ist die Durchblutungsgröße der Mesenterialarterien und Kranzarterien bei Hunden von durchschnittlich 20 kg bei Registrierung mit der Reinschen Stromuhr nach Verabfolgungen von 10 mg Bromcholinbromid wie 0,1 mg Azetylcholin, beide i. m. gegeben, nicht in allen Fällen bei Versuchen an 10 Hunden im Sinne einer Zunahme zu buchen. Die Änderungen halten sich in geringen Grenzen. Dagegen sind bei Verabfolgung gleicher Dosen nach Darreichung beider Substanzen geringe Steigerungen der Durchblutung der Carotis interna zu verzeichnen. Während bei den erstgenannten Gefäßgebieten Verengerungen vorkommen, bleiben solche bei der Cerebraldurchblutung aus.

3. Befunde bei Prüfung der Herzdynamik.

Während bei Hunden von 20 kg das Azetylcholin bei intravenöser Verabfolgung in Dosen von 0,1—0,2 mg nicht selten Kollaps veranlaßt, lassen Darreichungen bis zu 10 mg Bromcholinbromid solche Symptome vermissen. Nach den später darzulegenden Befunden haben sich für i. v. Gaben ans Tier als isodyname Dosen etwa 0,003 mg Azetylcholin und 0,3 mg Bromcholinbromid ergeben. Die intravenöse Verabfolgung ist im allgemeinen bei Hunden bis zu 20 kg auch in Dosen von 0,01 mg Azetylcholin und 1 mg Bromcholinbromid ohne herzschädigende Wirkung verträglich. Jedoch ist nach dem Mechanismus der Wirkung der Cholinkörper die i. m.-Darreichung naturgemäß physiologischer. Bei 6 Hunden von 20 kg bleiben nach Gaben von 0,01 mg Azetylcholin und 1 mg Bromcholinbromid Minutenvolumen und Vorhofdruck unverändert. Die Kranzgefäße reagieren eher noch im Sinne einer geringen Erweiterung, und zwar bei beiden Substanzen.

4. Einfluß auf die Cholerese.

An Ratten führen Dosen von 0,00001 mg Azetylcholin und 0,001 mg Bromcholinbromid nach i. m.-Verabfolgung zu einer erheblichen Mehr-

abscheidung von Galle, die durch Tropfenzähler bei eingebundener Choledochuskanüle gewonnen wird. Im allgemeinen erweist sich bei Mikrobestimmung der Bilirubingehalt der Galle nach somit gesteigertem choleretischem Effekt als erhöht. Auch hierin zeigen Azetylcholin und Bromcholinbromid keine eindeutigen Unterschiede.

5. Untersuchungen der Blutzuckerwerte.

An Patienten mit und ohne diabetische Stoffwechselstörung wurden gleichzeitig die i. m.-Gaben von 0,1 mg Azetylcholin und 10 mg Bromcholinbromid untersucht. Gemäß der Syntropie von Cholinkörpern mit Insulin (vgl. Gremels) wären Senkungen eventuell zu erwarten gewesen. Die Prüfungen am Menschen ließen jedoch eindeutige Änderungen bisher nicht erkennen.

6. Abweichungen des Elektrolytgehalts und der Plasmaeiweißkörper am Menschen im Serum.

Nach den Ergebnissen von Feldberg und Guimarais wird das Azetylcholin in Nerv und Endplatte durch Kaliumionen in Freiheit gesetzt. Nachdem sich also der Mechanismus der Azetylcholinbildung aus einer rein elektrischen Theorie der Erregungsleitung erklärt, hätte man daran denken können, daß andererseits die Verabfolgung von Cholinkörpern Verschiebungen des Kalium/Calcium-Quotienten vermitteln würde. Es war nicht ausgeschlossen, daß Gaben von Cholinsubstanzen hier Änderungen auslösten, die vielleicht beim Krankheitsbild der affektiven Tonusschwäche von Bedeutung wäre. An 50 Patienten wurden nach i. m.-Gaben von 3 mal 0,1 mg Azetylcholin bzw. 4 mal 6 mg Bromcholinbromid oral vor der Medikation, am Tage danach, alsdann bei laufender Medikation 10, 20 und 30 Tage nach der Erstmedikation die Kationen im Blute (Kalium, Natrium, Calcium, Magnesium) bestimmt. Auch hier waren besondere Unterschiede zwischen Azetylcholin und Bromcholinbromid nicht festzustellen. In Übereinstimmung mit den Angaben von Bacq, Cicardo, Narikashvili, Harvey und von Muralt ergaben sich überhaupt keine gesetzmäßigen Abweichungen der genannten Kationen, so daß auf eine vergleichende Betrachtung der hierauf gerichteten Untersuchungen am Menschen verzichtet werden darf.

7. Prüfungen des Gaswechsels.

Medikationen von 3 mal täglich 0,1 mg Azetylcholin i. m. bzw. 6 mg Bromcholinbromid oral beim Menschen zeigten bei laufender Registrierung der Plusprozent CO_2 und Minusprozent O_2 in der Ausatmungsluft mit Hilfe des Gaswechselschreibers nach Rein unmittelbar nach der Medikation oder während des Einsetzens der Wirkung, die für Bromcholinbromid hier auch durch i. m.-Gaben von 10 mg geprüft wurde, geringe Senkungen des

O_2-Verbrauchs. Hierin besteht Einklang mit den Ergebnissen von v. Hueber, welche auf den Unteruchungen von Gremels fußen. Diese Prüfungen führten weiterhin zu keiner eindeutigen Unterscheidung von Azetylcholin und Bromcholinbromid, die Senkungen waren auch nur bei 5 von 20 Patienten vorhanden und nahmen Ausmaße zwischen 5 und 8% gegenüber dem Ausgangswert an.

8. Einflußnahme auf das Blut.

Verabfolgungen am Menschen in der oben genannten Dosierung ließen die Plasmaeiweißkörper meist unbeeinflußt, selten kamen geringe Steigerungen zustande. Eindeutige Veränderungen der Blutwerte, sowie der Differentialblutbilder fehlten.

9. Vasodilatation.

Um lokale Wirkungen zu erweisen, erfolgten Prüfungen am Trendelenburgschen Froschpräparat und am isolierten Kaninchenohr nach Pissemski. Beide Versuchsanordnungen ließen sowohl nach Azetylcholin in Verdünnungen bis zu 1 : 10000000 wie nach Bromcholinbromid in Verdünnungen von 1 : 100000 Zunahmen der Tropfenzahl bis zu 30% der Ausgangswerte erkennen. Diese am nervenunabhängigen Präparat gewonnenen Daten berechtigen zu der Annahme, daß sowohl Azetylcholin wie Bromcholinbromid sich in ihrer Wirkung besonders auf die Arteriolen erstrecken.

10. Prüfungen von Blutdruckwirkung, Atmung und Harnabscheidung.

Es erwies sich als zweckmäßig, Atmung, Blutdruck und Diurese gleichzeitig zu registrieren, um aus der Relation dieser Vorgänge gleichzeitig Schlüsse auf unspezifische Wirkungen ziehen zu können. Die Untersuchungen wurden an 45 Katzen in Chloralosenarkose durchgeführt. Die Dosen sind jeweils auf 3 kg Tier berechnet.

Die Untersuchungen von Azetylcholin

zeigten in Dosen von 0,003 mg i. v. oder i. m. kurzfristige Senkungen des Blutdrucks um durchschnittlich 10—15 mm Hg. Hierbei kamen erhebliche Hyperventilationen vor, so daß zusätzliche akapnisch bedingte depressorische Effekte hinzutraten. Die Wirkungen waren kurzfristig und kehrten im allgemeinen bald zur Norm zurück. Eindeutige Änderungen der Harnabscheidung wurden nicht beobachtet. Gleichzeitige Registrierung der Durchblutungsgröße der Niere mit der Reinschen Stromuhr zeigten nicht immer eindeutige Abweichungen, wie übrigens später auch beim Bromcholinbromid.

Wurden Darreichungen von 0,03 mg Azetylcholin während einer konstanten Dauerinfusion von Hypophysin zusätzlich (Dauerinfusions

apparatur nach Herrn Uhlig, Pharmakol. Institut der Universität Berlin) i. m. oder i. v. verabfolgt, so kam es in den meisten Fällen rasch zum letalen Kollaps. Dauerwirkungen von Acetylcholin wurden weder an sich noch im Einfluß auf die hypophysinbedingte Arteriolenmenge in keiner Dosengröße weder bei i. m.- noch bei i. v.-Infusion beobachtet.

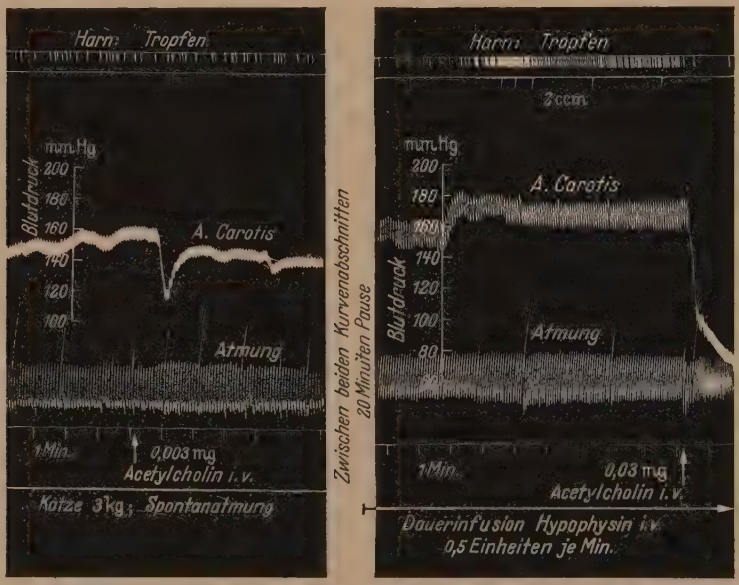


Abb. 1. Depressorischer Effekt von 0,003 mg Azetylcholin bei i. v.-Darreichung. Im weiteren Verlauf der Kurve sind 10 Einheiten Hypophysin im Verlauf von 20 Min. i. v. dauerinfundiert, die hierbei verabfolgte i. v.-Injektion von 0,03 mg Azetylcholin i. v. veranlaßt letalen Kollaps, obgleich die Hypophysindauerinfusion weitergeht.

Die Untersuchungen von Bromcholinbromid.

Hierbei wurden ebenfalls steigende Dosen Bromcholinbromid bei i. m.- oder i. v.-Gabe bezüglich des optimalen Effekts ausgetestet; beide Male ergaben sich 0,3—0,5 mg Bromcholinbromid als optimal wirksam. Im Unterschied gegenüber dem Azetylcholin war zunächst festzustellen, daß Steigerungen des Harnflusses bei Bromcholinbromid nicht selten waren.

Auch nahm manchmal die Durchblutungsgröße der Nieren zu. Hyperventilationen als Folgen der Injektion auch bei i. v.-Gabe wurde ebenfalls im Gegensatz zum Azetylcholin nicht so häufig beobachtet. Bei steigenden Dosen von 0,05 mg Bromcholinbromid bis 0,5 mg zeigte sich in 30% der Versuche entsprechend der Steigerung der Dosen eine Zunahme des depressorischen Effektes. Während solche Wirkungen für Azetylcholin in der bekannten Weise recht kurzfristig waren, zeitigten i. m.- oder i. v.-Gaben von Bromcholinbromid bei der als optimal erkannten Dosis von 0,5 mg sowohl i. m. oder i. v. permanente Senkungen bis zu 2 Stunden.

Das hierbei keine Herzschädigung ursächlich vorlag, ergaben Kontrollversuche mit Registrierung des Vorhofdruckes und die früher dargelegten Befunde an Hunden, welche ein Konstantbleiben von Minutenvolumen und Vorhofdruck, also ein Intaktbleiben der Herztätigkeit bei isodynamen Dosen, belegen.

Das Ausmaß der Blutdrucksenkung betrug bis zu 45 mm Hg in der dargelegten Wirkungsdauer.

In diesem Zusammenhang ist es von Bedeutung, daß Dosen von 0,5 mg Bromcholinbromid bei oraler Verabfolgung in zusätzlichen Versuchen an 5 Katzen Senkungen des Blutdruckes um durchschnittlich 3 Stunden, manchmal unter deutlicher Zunahme der Diurese, hervorriefen. Auch hierbei erwies sich die Atmung als völlig ungestört. Von Belang ist es, daß die Dauer der Blutdrucksenkung nicht vom Beginn an, sondern nach Einstellung des tiefsten Niveaus gemessen und von so langer Dauer gefunden wurde.

Die bei i. v.- wie i. m.-Darreichung vorkommenden Blutdrucksenkungen bis zu 60 mm Hg zeigten ebenfalls keine Schädigung der Herztätigkeit an, da Messungen des Minutenvolumens (an der Katze auch mit Hilfe der Farbstoffmethode gemessen) nur Senkungen bis zu 10 % des Ausgangswertes ergaben, die gleichzeitig registrierten O_2-Verbrauchsgrößen jedoch im allgemeinen eingeschränkt waren, was im allgemeinen bei einem Nachlassen der Herztätigkeit infolge eintretenden Debts nicht der Fall zu sein pflegt.

Abb. 2. Zunahme der depressorischen Wirkung nach i. v.-Gaben von Bromcholinbromid mit konstanter Niederhaltung des Blutdrucks bei 0,5 mg optimal unter konkordanter Steigerung der Diurese bei gleichbleibender Atmung.

Die Versuche, die zum Ziel hatten, die allgemeine Enge der arteriolaren Strombahn durch Bromcholinbromid zu durchbrechen, wurden weiterhin

beim Bromcholinbromid mit laufender Hypophysininfusion ununterbrochen bis zu 2 Stunden durchgeführt. Hierbei wurde pro Minute eine halbe Einheit Hypophysin intravenös dauerinfundiert. Auch diese Versuche ergaben bei i. m.-Darreichung von 0,3—0,5 mg Bromcholinbromid schöne Durchbrechungen der Arteriolenenge mit Blutdrucksenkungen um durch-

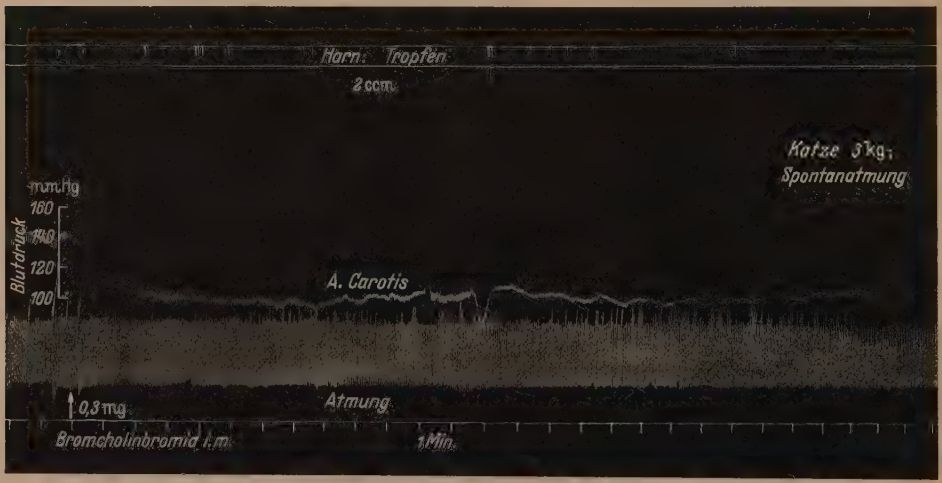


Abb. 3. Permanente Blutdrucksenkung nach 0,3 mg Bromcholinbromid i. m.

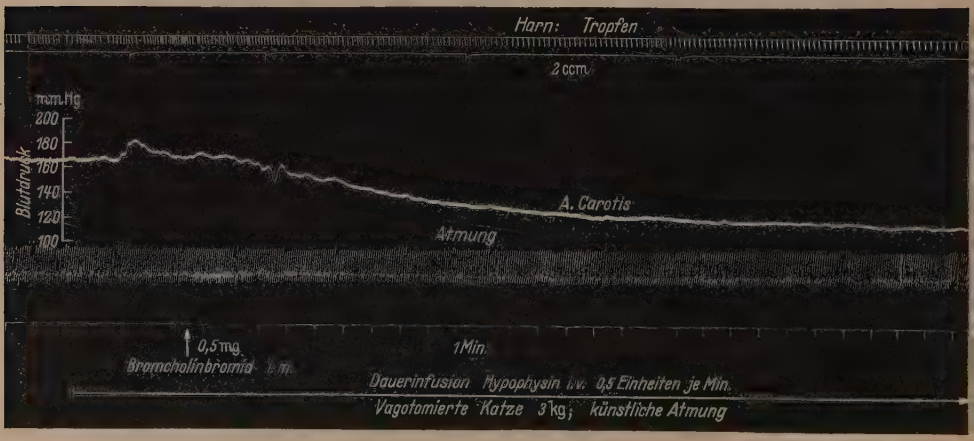


Abb. 4. Vagotomierte Katze, künstliche Atmung. 0,5 Einheiten Hypophysin pro Minute über 2 Stunden. i. v.-Durchbrechungseffekt mit Bromcholinbromid (i. m.).

schnittlich sogar 50—60 mm Hg. Atmung und Diurese blieben hierbei häufig unbeeinflußt.

Es ist von Wichtigkeit, daß bei vagotomierten Tieren die gleichen Verhältnisse herrschen wie bei Tieren mit intakten Vagi, weshalb hier eine Kurve am vagotomierten Tier mit künstlicher Atmung unter solchen Versuchsbedingungen gegeben werden darf.

Die Blutdrucksenkungen bei laufender Hypophysininfusion können bis zu 80 mm Hg gehen, wenn der Durchbrechungsversuch mit Bromcholinbromid durchgeführt wird. Hierbei kann durchaus auch die i. v.-Darreichung von 0,5 mg Bromcholinbromid gute Dauerwirkungen hervorrufen.

Abb. 5. Laufende Hypophysindauerinfusion. 0,5 Einheiten Hypophysin pro Minute, intaktes Tier. Depressorischer Effekt von 0,5 mg Bromcholinbromid während der Infusion, welcher durch die Fortführung der Infusion nicht aufgehoben wird.

Die depressorischen Wirkungen von Bromcholinbromid erstrecken sich auf 28—35 Katzen bei i. m.- oder i. v.-Gabe, während bei Azetylcholin 12 Katzen von 35 Senkungen aufwiesen. Es wurden regelmäßig an den gleichen Tieren Vergleichsuntersuchungen von Azetylcholin und Bromcholinbromid durchgeführt, was wegen der Wiederherstellung der Ansprechbarkeit der Tiere nach Azetylcholingabe und Eintreten der Ausgangswerte

von Blutdruck und Herztätigkeit nicht nur erlaubt, sondern erwünscht erscheinen mußte.

Die Tiere, die keine depressorischen Wirkungen erkennen ließen, blieben zwar nach Bromcholinbromid im Blutdruckverhalten vorwiegend unverändert, nur 2 Katzen zeigten nach der sehr hohen Dosis von 5 mg i.v. sogar Blutdrucksteigerungen um 15 mm Hg oder Kollaps. Azetylcholin führte sowohl wie bei i.v.- wie i.m.-Gabe häufiger zu Blutdruckerhöhungen bis zu 25 mm Hg über den Ausgangswert hinaus, wobei es gleichgültig war, ob vorher Vagotomie statthatte oder nicht.

Schlußwort.

Von den gefäßerweiternden Stoffen der Gewebe kommt den Cholinkörpern eine große Bedeutung zu. Hierbei ist es beim Azetylcholin von Belang, daß häufiger Blutdruckerhöhungen sich einstellen, als dem bei der Cholinesterase nicht ohne weiteres zugänglichen Bromcholinbromid. Dies mag besonders auf der Einwirkung des Azetylcholins auf das Glomus caroticum beruhen, woraus sich nach Heymans anders als bei Reizung des Sinus auch Blutdrucksteigerungen ergeben können. Während sich nach eigenen Untersuchungen die Wirkungen der Adenylsäurereihe und übrigens auch des 1-Methyl-4-phenyl-piperidin-4-carbonsäureäthylester-hcl. mehr auf die gröberen Arterienverzweigungen im Sinne einer Erweiterung erstrecken, haben die Cholinderivate in besonderem Maße ihren Angriffspunkt an den Arteriolen.

Die genaue Untersuchung von Azetylcholin und Bromcholinbromid ergibt an Mensch und Tier gewisse Vorteile des Bromcholinbromids in therapeutischer Hinsicht. Dieses ist oral wirksam, veranlaßt in wirksamen Dosen keine EKG.-Veränderungen und erstreckt sich in seiner Wirkung auf wesentliche längere Zeiträume als das Azetylcholin. Beide Substanzen wirken im Sinne einer Mehrung der Cerebraldurchblutung im gewissen Ausmaße, in gewissem Grade gleichsinnig auch auf die Nierendurchblutung. Auf die Coronararterien wirken beide Stoffe ebenfalls in therapeutischen Dosen eher noch erweiternd. Steigerungen des Gallenflusses und der Diurese zeigen keine großen Ausschläge, sind jedoch immerhin vorhanden und deutlich bis auf wenige Ausnahmen.

Die Wirkung auf das Herz ist ebenfalls für beide Substanzen bezüglich der Befunde von Vorhofdruck und Minutenvolumen von keiner Änderung gefolgt, außer es stellen sich nach toxischen Dosen, die beim Hund von 20 kg bei 0,5 mg Azetylcholin bzw. 25 mg Bromcholinbromid i.m. liegen, Kollapssymptome ein.

Die Untersuchungen des Kationengehalts des Serums der Blutzuckerwerte und des Stoffwechsels ergeben bisher keine therapeutischen Indikationen.

Für die Indikation der Blutdrucksenkung sind jedoch beide Stoffe verwendbar, wobei die Möglichkeit der Blutdrucksteigerung, die wohl nicht nur über die Glomera carotica, sondern möglicherweise auch über zentrale Angriffspunkte gehen dürfte, berücksichtigt werden kann.

Im Vordergrund der beobachteten Wirkungen nach Applikation von Azetylcholin und Bromcholinbromid stehen Vasodilation und Blutdrucksenkung. Der lokale Effekt im Sinne der Vasodilation am isolierten Organ gilt für beide Pharmaka in gleicher Weise. Blutdrucksenkungen werden jedoch am innervierten Tier häufiger nach Bromcholinbromid beobachtet. Sie sind experimentell häufig von einer Dauer bis zu 2 Stunden und darüber an Katzen zu beobachten, ohne daß Schädigungen der Herztätigkeit nachweisbar wären. Die Darreichung während einer allgemeinen Arteriolenenge durch Hypophysindauerinfusion läßt für Azetylcholin bei jeder Darreichungsform in den möglichen Dosenbreiten kurzfristige Blutdrucksenkungen beobachten. Die Stabilität des Bromcholinbromids gegenüber der Azetylcholinesterase führt unter diesen Bedingungen zu lang ausgedehnten depressorischen Effekten, auch wenn die Hypophysininfusion fortgeführt wird. Da hierbei die Minutenvolumina nur geringgradig und manchmal gar nicht abnehmen, darf an die Möglichkeit auch der Eröffnung von arteriovenösen Anastomosen gedacht werden, da jetzt begonnene klinische Untersuchungen sowohl nach Azetylcholin wie nach anderen Cholinderivaten einen Anstieg des O_2-Gehalts im Venenblut zeigen können.

Literatur.

Ammon, R.: Vortrag in der Berl. Physiolog. Ges. am 15. 12. 1933 über Azetylcholin und seine fermentative Spaltung. — Bohn, H.: Klin. Wschr. **1930**, Nr. 46, S. 2147. — Gollwitzer-Meier: Verh. dtsch. Ges. Kreisl.forsch. 1937, S. 137. — Stropeni u. Battezzati: Klin. Wschr. **1942**, Nr. 16, S. 357. — Schaefer: Ebenda **1941**, Nr. 9, S. 209. — Bacq: Arch. internat. Pharmacodynam. **63**, Nr. 1, S. 59 (1939). — Cicardo: Rev. Soc. argent. Biol. **15**, 12 (1939). — Narikashvili: Bull. biol. med. exp. URSS. **7**, 286 (1939). — Harvey u. Intosh: J. Physiol. (Brit.) **97**, 3, 408 1940. — Cicardo: C. r. Soc. Biol. **152**, 25, 505 (1939). — A. von Muralt: Naturw. 1939, Nr. 17, S. 265. — F. von Hueber: Dtsch. med. Wschr. **1942**, Nr. 19, S. 483. — Fleisch u. Domenjoc: Klin. Wschr. **1940**, Nr. 38, S. 984. — Bacq u. Brown: J. Physiol. (Brit.) **89**, 45 (1936). — Gremels: Erg. Physiol. usw. **41** (1938). — Rein: Handbuch d. biol. Arbeitsmethoden, 1930.

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Köln.
(Prof. Knipping.)

Sauerstoffmangel und Säurebasengleichgewicht*.

II. Von morphologischen Regulationsvorgängen im Blute bei Drosselung der Sauerstoffzufuhr und ihrer Abhängigkeit vom Säurebasengleichgewicht.

Von
Prof. **C. Dienst** und Dr. **van Bebber.**

(Eingegangen am 11. Mai 1943.)

Es ist eine Eigentümlichkeit der lebenden Substanz, jeder Änderung der Umweltbedingungen, die irgendwie zu einer Störung führt, durch Maßnahmen kompensatorischer Art zu begegnen. Auch das Blut reagiert in diesem Sinne.

Zwei Möglichkeiten sind zum Ausgleich eines Sauerstoffmangels der Luft gegeben. Einmal können die Bedingungen für die Sauerstoffaufnahme verbessert werden. Ein solcher Effekt kann im wesentlichen durch Erhöhung der Sauerstoffspannung in der Alveolarluft, d. h. durch Hyperventilation, bewirkt werden. Infolge der Überlüftung wird sich reichlich Frischluft der verbrauchten Alveolarluft beimengen, was in einer Steigerung des Ventilationskoeffizienten zum Ausdruck kommt. Die Folge davon ist, daß sich die Sauerstoffspannung der Alveolarluft erhöht.

Die zweite Möglichkeit liegt in einer Steigerung der Sauerstoffkapazität des Blutes. Der Sauerstoffgehalt ist nicht nur von der Sauerstoffspannung abhängig, sondern auch bei einer gegebenen Spannung von der Menge der vorhandenen sauerstoffbindenden Substanz. Die uns geläufige maximale Sauerstoffkapazität von 20 Vol.% gilt für Normalblut von 5 Mill. Erythrocyten im Kubikmillimeter mit etwa 16 g Hämoglobin in 100 ccm. Dieselbe Blutmenge von blutarmen Personen hat infolge des geringeren Gehalts an Hämoglobin ein kleineres Sauerstoffassungsvermögen als normales Blut, obwohl beide unter derselben Sauerstoffspannung stehen. Und umgekehrt, durch Erhöhung der Erythrocyten bzw. des Hämoglobins kann die Sauerstoffaufnahme des Blutes steigen.

Gelingt es nicht, durch den Atemvorgang die Sauerstoffnot zu kompensieren, so sucht der Körper dadurch, daß er das in den Depots ruhende Blut in den Kreislauf wirft, die Sauerstoffkapazität zu erhöhen: Erythrocyten und Hämoglobin steigen an, wie dieses als Folge der Höhenanoxämie bekannt und studiert wurde.

---

* Der I. Teil erschien in Naunyn-Schmiedebergs Arch. **202**, S. 85.

Beim Aufenthalt in großen Höhen liegt allerdings ein bedeutender Sauerstoffmangel vor. Es kann nicht ohne weiteres als gesichert angesehen werden, ob sich von der extremen Sauerstoffnot Parallelen zu leichteren und nur kurze Zeit währenden Graden eines Sauerstoffmangels ziehen lassen, wie sie bei geringer Behinderung der äußeren Atmung vorhanden ist, oder gar beim Arbeiten mit der industriellen Atemschutzmaske, wo neben verstärkter Beanspruchung der äußeren Atmung noch eine Steigerung der inneren Atmung durch die Arbeit besteht. Und was erfolgt, wenn durch Drosselung der Blutzufuhr die Sauerstoffversorgung regionärer Körperpartien behindert wird?

Mit diesen Andeutungen seien die Fragen umrissen, die uns im folgenden beschäftigen werden. Außerdem interessierten uns noch der Umfang und vor allem der Mechanismus etwaiger, unter diesen Versuchsbedingungen sich abspielender Regulationsvorgänge, weil wir uns von ihrer Kenntnis die Möglichkeit einer therapeutischen Beeinflußbarkeit versprachen.

O_2-Mangel erzielten wir dadurch, daß wir unsere Versuchspersonen gegen einen Filterwiderstand atmen ließen.

Zunächst wurden Untersuchungen am ruhenden Menschen vorgenommen (Tabelle 1).

Tabelle 1. Atmung in Ruhe bei gedrosselter O_2-Zufuhr.

	Versuchsperson Nr. I		Versuchsperson Nr. II		Versuchsperson Nr. III	
	Erythrocyten in Mill.	Hb. in %	Erythrocyten in Mill.	Hb. in %	Erythrocyten in Mill.	Hb. in %
Ausgangswert	5,27	96	5,10	94	4,82	90
Nach 30 Minuten.....	5,84	99	5,52	99	5,42	98
„ 1 Stunde.....	5,96	102	5,62	101	5,42	98
„ 2 Stunden.....	5,99	102	5,57	101	5,41	98

Die Tabelle 1 zeigt, daß selbst geringer O_2-Mangel genügt, um einen beachtlichen Erythrocyten- und Hämoglobinanstieg auszulösen [van Bebber (1)]. Schon nach Ablauf von 30 Minuten haben die Erythrocyten mit einem Anstieg von etwa 12% und das Hämoglobin von etwa 8% im wesentlichen ihren definitiven Höchstwert erreicht. Auch nach Ablauf von 2 Stunden finden sich keine höheren Werte.

Man muß sich aber bei diesem Ergebnis fragen, ob Kohlensäurestauung oder Sauerstoffmangel den adäquaten Reiz für die beachteten Reaktionen darstellt. Um dieses zu klären, haben wir Versuchspersonen mit CO_2-angereicherter Luft atmen lassen (Tabelle 2A). Hierbei zeigt sich, daß der Erythrocyten- und Hämoglobinanstieg ebenfalls eintrat.

Doch auch infolge der CO_2-Anreicherung kommt O_2-Mangel zustande. Es ist also damit nicht entschieden, ob O_2-Mangel oder CO_2-Anreicherung die Ursache ist. Wollte man aber die Kohlensäure als spezifisches Agens

Tabelle 2.

	Versuchsperson Nr. I		Versuchsperson Nr. II		Versuchsperson Nr. III		Versuchsperson Nr. IV	
	Erythrocyten in Mill.	Hb. in %	Erythrocyten in Mill.	Hb. in %	Erythrocyten in Mill.	Hb. in %	Erythrocyten in Mill.	Hb. in %
A. Kohlensäureeinatmung.								
Ausgangswert	5,18	96	4,60	83	4,74	86	4,38	81
Nach 45 Minuten ..	5,52	100	5,70	93	5,97	98	5,44	95
B. (Vergleich) Stickstoffeinatmung.								
Ausgangswert	5,50	94	5,19	91	4,62	84	4,28	80
Nach 45 Minuten ..	5,30	95	5,99	98	5,18	90	4,69	87

ansehen, dann müßte der Effekt im Blute ausbleiben, wenn die CO_2 durch ein indifferentes Gas, z. B. durch Stickstoff, ersetzt wird. Das war nicht der Fall. Auch nach Inhalation eines stickstoffreichen Gasgemisches fand sich eine Vermehrung der Sauerstoffträger im Blute (Tabelle 2B). Dadurch dürfte es gesichert sein, daß Sauerstoffmangel den spezifischen Reiz für die Blutveränderungen darstellt.

Wir haben aber O_2-Mangel noch auf anderem Wege erzeugt und eine Modifikation angewandt, die gerade im Hinblick auf die Regulationsvorgänge bei O_2-Mangel und die sich daraus ergebenden Nutzanwendungen

Tabelle 3. Venöse Stauung beider Beine.

	Erythrocyten in Mill.		Hb. in %	
	Hand	Fuß	Hand	Fuß
Versuchsperson Nr. I.				
Ausgangswert	4,68	—	90	—
Nach 1 Stunde	4,96	4,58	90	90
„ 2 Stunden	5,66	5,04	99	93
„ 3 „	5,16	5,30	98	99
Stauung ab 30 Minuten	4,86	—	91	—
Versuchsperson Nr. II.				
Ausgangswert	4,94	—	94	—
Nach 1 Stunde	5,24	5,14	99	94
„ 2 Stunden	5,88	5,68	101	99
„ 3 „	5,40	5,50	100	101
Stauung ab 30 Minuten	5,38	—	97	—
Versuchsperson Nr. III.				
Ausgangswert	5,34	—	95	—
Nach $2^1/_2$ Stunden	5,94	5,76	106	104
Versuchsperson Nr. IV.				
Ausgangswert	5,30	—	94	—
Nach $2^1/_2$ Stunden	6,16	—	103	—
Stauung ab 30 Minuten	5,46	95	—	—
Versuchsperson Nr. V.				
Nach 2 Stunden	6,20	101	—	—

nicht ohne praktisches Interesse ist: Staut man durch elastische Binden beim Menschen eine Extremität, so erfolgt ein Anstieg der Erythrocyten und des Hämoglobins, und zwar sowohl in den gestauten als auch in den ungestauten Körperregionen [Dienst (2)]. Man kann sich vorstellen, daß, da ein Teil des Blutes nicht mehr zirkuliert, der Sauerstofftransport beeinträchtigt wird und so ein relativer Sauerstoffmangel entsteht, der die Regulationsvorgänge im Blute auslöst (Tabelle 3). Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, sind 2 Stunden nach erfolgter Stauung mit einer Steigerung von 20 % die Erythrocytenhöchstwerte erreicht, während der Hämoglobingehalt nur um 11 % steigt, so daß eine Erniedrigung des Färbeindexwertes resultiert. Der übrigens bei allen Versuchen deutliche Abfall des Färbeindex läßt möglicherweise auf eine geringere Farbstoffbeladung der neueingeschwemmten roten Blutkörperchen schließen.

Wie bei der Höhenanoxämie, beseitigt auch bei der Stauungspolyglobulie O_2-Atmung die Regulationsvorgänge im Blute, aber nur in den nicht gestauten Körperteilen. Das beweist, daß auch hierbei, ebenso wie bei der Höhenanoxämie, Sauerstoffmangel diese Reaktion entscheidend beeinflußt.

Tabelle 4.

	Versuchsperson Nr. I		Versuchsperson Nr. II		Versuchsperson Nr. III		
	Erythrocyten in Mill.	Hb. in %	Erythrocyten in Mill.	Hb. in %	Erythrocyten in Mill.	Hb. in %	
A. Sauerstoffatmung bei venöser Stauung.							
Ausgangswert	4,38	83	5,46	98	5,16	94	
Nach 2 Std. Hand ..	5,24	94	6,20	106	5,72	99	(ungestaut)
„ 2 „ Fuß....	5,04	92	5,90	104	5,44	97	(gestaut)
O_2-Atmung Hand ..	4,76	90	5,36	101	4,98	96	(ungestaut)
Nach 1 Std. Fuß....	5,16	94	6,28	107	5,62	98	(gestaut)
B. Venöse Stauung nach Alkaligabe.							
Ausgangswert	4,60	94	4,50	90	4,84	94	(ungestaut)
Nach $1^1/_2$ Std. Hand.	4,84	88	4,66	82	4,96	86	
„ $1^1/_2$ „ Fuß ..	5,17	96	4,96	96	5,20	97	(gestaut)

Schon bei den Ergebnissen der Höhenanoxämie war von den Autoren die Frage aufgeworfen worden, ob der Erythrocyten- und Hämoglobinanstieg Folge der Blutneubildung oder einer Blutumlagerung wäre. Wir haben diese Frage zu klären versucht, indem wir sowohl bei venöser Stauung, als auch bei Drosselung der Luftzufuhr die Reticulocyten verfolgten (Vitalfärbung mit Brillantkresylblau). Es konnte dabei keine gesteigerte Ausschüttung von vitalgranulierten Erythrocyten beobachtet werden, weshalb wir von der Mitteilung dieser Ergebnisse absehen. Selbst wenn, wie es bei akut auftretendem O_2-Mangel der Fall sein soll, vermehrt jugendlich rote Zellen im Blute aufträten, so dürfte es sich dabei auch nur um eine einfache Reticulocytose handeln und nicht um eine Regenerations-

Tabelle 5.

	Versuchsperson Nr. I			Versuchsperson Nr. II			Versuchsperson Nr. III			Versuchsperson Nr. IV			Versuchsperson Nr. V		
	Belastung: 120 Watt, 10 Minuten									Belastung: 150 Watt, 10 Minuten					
	Erythrocyten in Mill.	Hb. in %	Alkalireserve in Vol.% CO_2	Erythrocyten in Mill.	Hb. in %	Alkalireserve in Vol.% CO_2	Erythrocyten in Mill.	Hb. in %	Alkalireserve in Vol.% CO_2	Erythrocyten in Mill.	Hb. in %	Alkalireserve in Vol.% CO_2	Erythrocyten in Mill.	Hb. in %	Alkalireserve in Vol.% CO_2
A. Arbeit bei gedrosselter Luftzufuhr.															
Ausgangswert .	4,37	83	47,8	5,13	94	54,6	5,20	98	51,2	4,34	80	50,1	5,12	96	56,8
Nach Arbeit . .	4,73	89	44,2	5,68	100	48,7	5,80	106	46,8	4,91	91	40,8	5,48	102	48,4
Vergleich: B. Arbeit bei gleicher Belastung in freier Luft.															
Ausgangswert .	4,48	84	—	4,98	94	—	5,19	96	—	4,80	90	—	4,96	94	—
Nach Arbeit . .	4,76	88	—	5,42	99	—	5,79	102	—	5,92	100	—	5,68	102	—

reticulocytose durch zusätzliche Neubildung. Nur bei längerem Aufenthalt in großer Höhe kommt es bekanntlich zu einer Knochenmarkshyperplasie. Die akuten asphyktischen Polyglobulien beruhen jedoch wohl in erster Linie auf einer Entleerung der Blutdepots und nicht auf einer Mehrleistung des Knochenmarks. Neben einer vasomotorischen Änderung der Blutverteilung ist es wohl vor allem die Milz, die ein erythrocytenreiches Blut abgibt.

Wir haben weiter unter der Maske dosierte Arbeit am Knippingschen Ergometer bei 120 und 150 Watt leisten lassen. Man hätte vielleicht erwartet, daß infolge der ungleich intensiveren Reizwirkung des erhöhten O_2-Bedarfs unter Belastung die Kompensationsmaßnahmen im Blut noch stärker einsetzen würden. Es gelang aber nicht, über einen Erythrocytenanstieg von 20% und einen Hämoglobinanstieg von 11% hinauszukommen. Sowohl bei freier als auch bei gedrosselter Atmung stiegen die roten Zellen um 10% und die Hämoglobinwerte um 5% an (Tabelle 5). Es scheint also für die Blutveränderungen ohne Bedeutung zu sein, ob die Arbeit mit oder ohne Atemfilter geleistet wird. Es ist freilich altbekannt, daß schon bei bloßer Arbeit ein Erythrocytenanstieg erfolgt, offenbar weil es bei jeder Arbeit zu einem relativen O_2-Mangel kommt und darüber hinaus das Blut aus den inneren Organen den Muskeln und zur Abgabe überschüssiger Wärme auch der Haut zufließen muß.

Deutliche Unterschiede im zeitlichen Verlauf der Erythrocyten- und Hämoglobinkurven sind dagegen bei weniger intensiver Dauerarbeit vorhanden (Tabelle 6).

Tabelle 6.

	Versuchsperson Nr. I		Versuchsperson Nr. II		Versuchsperson Nr. III	
	Erythrocyten in Mill.	Hb. in %	Erythrocyten in Mill.	Hb. in %	Erythrocyten in Mill.	Hb. in %
A. Dauerarbeit bei gedrosselter O_2-Zufuhr.						
Belastung 120 Watt.						
Ausgangswert	4,70	90	5,18	98	4,54	85
Nach 10 Minuten	5,90	103	6,20	107	5,92	97
„ 17 „	5,91	103	6,19	107	5,84	98
„ 23 „	5,80	102	6,00	107	5,79	96
„ 28 „	5,83	100	5,86	106	5,56	96
Vergleich:						
B. Dauerarbeit bei gleicher Belastung und unbehinderter O_2-Zufuhr.						
Ausgangswert	4,58	93	5,20	97	4,52	83
Nach 10 Minuten	5,30	96	5,27	97	5,14	90
„ 17 „	5,64	101	5,73	103	5,48	91
„ 23 „	5,64	101	5,71	103	5,36	93
„ 28 „	5,79	102	5,74	103	5,24	93

Es zeigt sich, daß bei einer Belastung von 120 Watt und Atmen gegen den Filterwiderstand schon nach spätestens 17 Minuten die Erythrocytenhöchstwerte mit etwa 20—22% erreicht werden, die Hämoglobinwerte stiegen um 14% im Höchstfalle an (Tabelle 6A). Im weiteren Verlauf des Dauerarbeitsversuchs erfolgte kein stärkerer Anstieg der Blutwerte. Es hat sogar den Anschein, als ob die Neigung zum Abfallen der roten Blutkörperchen mit der Dauer der Arbeit zunimmt. Offenbar ergibt sich hier eine Parallele zu der Beobachtung von Krupski (3) u. a., daß bei länger dauernder Arbeit in großer Höhe die Erythrocytenwerte sinken. (Das Hämoglobin stieg bei Krupski weiter an.)

Bei den vergleichsweise von uns angestellten Dauerarbeitsversuchen in freier Luft bei gleicher Belastung stiegen die Blutwerte allmählich an und erreichten erst am Ende der Arbeitsleistung ihre definitive Höhe (Tabelle 6B). Die dabei nach 28 Minuten erreichten Werte bleiben etwas hinter denen zurück, die bei Dauerarbeit mit Atemfilter schon nach 17 Minuten erreicht sind.

Es war bei diesen Arbeitsversuchen weiter auffallend, daß die Erschöpfung trotz maximalen Erythrocyten- und Hämoglobinanstiegs früher auftrat, wenn die Sauerstoffzufuhr gedrosselt war. Gleichzeitig vorgenommene Bestimmungen der Alkalireserve im Blute (Methode nach van Slyke) ergaben ein rapides Absinken beim Erschöpften um annähernd 20% (Tabelle 5). Offenbar steht diese Tatsache mit der vorzeitigen Erschöpfung in Beziehung. Infolge der intensiven körperlichen Anstrengung findet eine beschleunigte Rückstauung der Kohlensäure statt, was zu einer Erhöhung der CO_2-Spannung im Blute und somit zur Kohlensäureacidose

führt. Diese Säuerung des Blutes drückt die Alkalireserve herab und mit ihr sinkt die Leistungsfähigkeit für Arbeit [Durig (4)].

Auch bei Drosselung der Sauerstoffzufuhr in Körperruhe oder bei venöser Stauung eines bzw. beider Beine haben wir Bestimmungen des Kohlensäurebindungsvermögens im Körperblut und im gestauten Blute vorgenommen, ohne daß wir jemals einen Abfall der Alkalireserve hätten konstatieren können. Hier haben offenbar die morphologischen Regulationsvorgänge im Blute genügt, um die unter Hypoxydose sich entwickelnde Acidose auszugleichen. Somit müßte der Anstieg der Erythrocyten und des Hämoglobins unter Sauerstoffmangel als Kompensationsmaßnahme des Säurebasengleichgewichts angesehen und dann als Symptom eines von uns als „acidotische Tendenz im Stoffwechsel" bezeichneten Geschehens aufgefaßt werden [Dienst (5)].

Wenn man jetzt, so folgerten wir weiter, unter Alkalianwendung ein Ausbleiben dieser Regulationsmaßnahme erlebte, so wäre damit diese Hypothese wesentlich gestützt.

In dieser Vorstellung verabfolgten wir unseren Probanden in Kontrollversuchen, über 12 Stunden verteilt, 30 g Natrium bicarbonicum. Als Auswirkung dieser Maßnahme (Tabelle 7) stellten wir dabei fest, daß:

1. in der Ruhe bei Drosselung der Atmung Erythrocyten- und Hämoglobinanstieg ausblieben (Tabelle 7 A),

2. ebenso bei geringer Arbeit mit und ohne Filter kein Anstieg erfolgte (Tabelle 7 B, C), dagegen aber die Leistungsfähigkeit, gemessen an der Arbeitsdauer trotz Filter gehoben war (Tabelle 7 C u. D),

3. bei schwerer Arbeit trotz Alkalisierung ein Anstieg erfolgte, die Leistungsfähigkeit aber wieder verbessert war,

4. der Wert der Alkalireserve beim Erschöpften noch höher lag (Tabelle 7 C, D) als der Ausgangswert beim Nichtalkalisierten, woraus hervorgeht, daß eine Alkalisierung durch unsere Maßnahme effektiv erfolgt war.

Statt Natrium bicarbonicum haben wir ferner Sepdelen 7 gegeben, eine uns aus früheren Untersuchungen [Dienst(6)] her bekannte Natriumsalzmischung (Natriumcitrat, Natriumtartrat, Natriumphosphat, Natriumsulfat, Natriumbicarbonat, hergestellt nach besonderem Verfahren) mit alkalisierendem Charakter. Die günstige Wirkung des Sepdelen bei Ermüdungszuständen ist empirisch festgestellt und auch in der medizinischen Fachpresse beschrieben worden [Hartwich (7)].

Wir gaben in unseren Versuchen dreimal täglich 1 Teelöffel Sepdelen, also relativ kleine Dosen. Nach 2 Tagen wurden die Kontrollen angestellt. Die Versuche zeigen, daß auch nach Sepdelen 7 der unter der Einwirkung von Sauerstoffmangel eintretende Erythrocytenanstieg ausbleibt,

Tabelle 7.

A. Atmung gegen Filterwiderstand in Ruhe ohne Alkalizufuhr.

	Versuchsperson Nr. I		Versuchsperson Nr. II		Versuchsperson Nr. III	
	Erythrocyten in Mill.	Hb. in %	Erythrocyten in Mill.	Hb. in %	Erythrocyten in Mill.	Hb. in %
Ausgangswert	5,27	96	5,10	94	4,82	90
Nach $1^1/_2$ Stunden....	5,99	102	5,57	101	5,41	98
Atmung gegen Filterwiderstand in Ruhe nach Alkalizufuhr.						
Ausgangswert	5,12	95	4,74	90	4,52	85
Nach $1^1/_2$ Stunden....	4,96	95	4,86	90	4,48	85

B. Arbeit bei freier Atmung nach Alkalizufuhr (150 Watt).

	Versuchsperson Nr. I Erythrocyten in Mill.	Versuchsperson Nr. II Erythrocyten in Mill.
Ausgangswert	4,47	4,79
Nach 5 Minuten	4,68	4,56
„ 10 „	4,56	4,86
„ 15 „	4,46	4,78
„ 20 „	4,38	4,88

C. Arbeit gegen ein Filter nach Alkalizufuhr.

	(175 Watt) Versuchsperson Nr. I	(170 Watt) Versuchsperson Nr. II	(150 Watt) Versuchsperson Nr. III		(125 Watt) Versuchsperson Nr. IV		(125 Watt) Versuchsperson Nr. V	
	Erythrocyten in Mill.	Erythrocyten in Mill.	Erythrocyten in Mill.	Alkalireserve	Erythrocyten in Mill.	Alkalireserve	Erythrocyten in Mill.	Alkalireserve
Ausgangswert	4,65	5,00	4,88	67,0	5,50	50,7	4,12	45,3
Nach 5 Min.	5,02	5,06	5,08		5,70		4,24	
„ 10 „	4,89	5,86	5,10		5,84		4,16	
„ 15 „	5,30	6,38	5,02		5,76		4,32	
„ 20 „	—	6,24	5,08	57,0	5,66		4,28	
„ 25 „	—	—	—		5,84		4,34	
„ 30 „	—	—	—		5,72		4,26	
„ 38 „	—	—	—		5,66	42,6	4,24	41,8

D. Arbeit gegen ein Filter ohne Alkalizufuhr.

Ausgangswert	4,34	4,99	4,97	42,7	5,55	41,2	4,79	37,7
Nach 5 Min.	5,62	5,24	5,34		5,54		4,64	
„ 10 „	5,51	5,88	5,44		5,78		5,36	
„ 15 „	—	—	5,84	38,2	5,64		5,52	
„ 20 „	—	—	—		6,28		5,52	
„ 25 „	—	—	—		6,76		5,68	
„ 30 „	—	—	—		6,92	34,2	5,80	34,0

Die Versuche wurden abgebrochen, sobald Erschöpfung auftrat.

oder geringer ist und die Leistungsfähigkeit unzweideutig gesteigert wird (Tabelle 8).

Tabelle 8.

A. Atmung gegen Filterwiderstand in Ruhe ohne Sepdelen 7.

	Versuchsperson Nr. I		Versuchsperson Nr. II	
	Erythrocyten in Mill.	Hb. in %	Erythrocyten in Mill.	Hb. in %
Ausgangswert	4,14	108	4,42	—
Nach $1^1/_2$ Stunden	4,50	112	4,88	—
Atmung gegen Filterwiderstand in Ruhe nach Sepdelen 7.				
Ausgangswert	4,6	112	4,28	—
Nach $1^1/_2$ Stunden	4,54	112	4,4	—

B. Arbeit bei freier Atmung ohne Sepdelen.

	(175 Watt)		(150 Watt)
	Versuchsperson Nr. I Erythrocyten in Mill.	Versuchsperson Nr. II Erythrocyten in Mill.	Versuchsperson Nr. III Erythrocyten in Mill.
Ausgangswert	4,28	4,72	4,9
Nach 5 Minuten ...	5,52	5,76	6,0
„ 10 „ ...	5,03	4,4	6,06
„ 12 „ ...	5,15	—	—
„ 15 „ ...	—	—	5,44
Arbeit bei freier Atmung mit Sepdelen.			
Ausgangswert	4,54	4,3	5,3
Nach 5 Minuten ...	4,82	4,42	5,16
„ 10 „ ...	4,34	4,22	4,90
„ 15 „ ...	4,46	4,44	5,2
„ 20 „ ...	—	—	5,18

C. Arbeit gegen ein Filter ohne Sepdelen.

	Versuchsperson Nr. I Erythrocyten in Mill.	Versuchsperson Nr. II Erythrocyten in Mill.	Versuchsperson Nr. III Erythrocyten in Mill.	Versuchsperson Nr. IV Erythrocyten in Mill.
Ausgangswert	5,16	4,02	3,98	4,42
Nach 5 Minuten ...	5,82	4,48	4,36	4,82
„ 10 „ ...	5,20	4,38	4,28	—
„ 15 „ ...	—	4,50	4,06	—
Arbeit gegen ein Filter nach Sepdelen.				
Ausgangswert	5,18	4,36	4,12	4,3
Nach 5 Minuten ...	5,15	4,66	4,08	4,44
„ 10 „ ...	5,42	4,20	4,32	—
„ 15 „ ...	5,12	4,68	3,92	—
„ 20 „ ...	5,02	4,44	4,06	—

Die Arbeitsversuche wurden jeweils bis zur Erschöpfung durchgeführt.

Hier sei ferner vermerkt, daß auch der Erythrocyten- und Hämoglobinanstieg nach venöser Stauung geringer war, wenn die Versuchsperson am Vortage alkalisiert wurde (Tabelle 4B).

Wenn aber nun, wie wir ausführten, der Erythrocyten- und Hämoglobinanstieg eine Maßnahme ist, die das O_2-Angebot erleichtert, dann kann man weiter folgern, daß infolge Alkali ein Kompensationsvorgang, der der Sauerstoffversorgung dient, in Reserve bleibt. Das bedeutet, daß Alkali die Leistungsfähigkeit zu steigern imstande ist. Darauf hat Dennig (8) bereits hingewiesen. Die von uns aufgezeigten Blutveränderungen können darüber hinaus die Begründung für diese in ihrem Wirkungsmechanismus noch nicht geklärte Feststellung abgeben.

Bemerkenswert war weiter noch bei diesen Arbeitsversuchen, daß die Erschöpfung auch dann eintrat, wenn die Blutreserven zur Überwindung der O_2-Not nicht mobilisiert waren. Man könnte sich vorstellen, daß in diesem Falle die im Muskel entstehenden Ermüdungsstoffe zu plötzlich und in großer Menge auftraten. Wir hatten auch früher schon gesehen, daß bei starker Übermüdung ein bereits vorhandener Erythrocyten- und Hämoglobinanstieg wieder zurückging. In diesen Fällen dürften wohl andere, wirksamere Mechanismen zur Überwindung der Sauerstoffnot, wie z. B. die Rechtsverschiebung der Sauerstoffdissoziationskurve des Blutes, beschleunigt in Kraft getreten sein.

Nachdem wir nun die Wirkung einer Alkalisierung auf die Leistungsfähigkeit studiert hatten, lag es nahe, den Einfluß einer Alkaliinjektion auf die Blutwerte des ruhenden Menschen zu verfolgen. Wir haben bei einer Reihe von Patienten intravenös Alkali gegeben (Tabelle 9A) und konnten beobachten, daß hierbei die Blutwerte abfielen. Andererseits haben wir beim Tier auch Säure injiziert (Tabelle 9B) und festgestellt, daß dadurch ein Erythrocyten- und Hämoglobinanstieg einsetzte.

Tabelle 9.

A. Intravenöse Injektion von Alkalilösung.

(4 g $NaHCO_3$ + 3,5 g Na_2CO_3 ad 100,0—40 ccm.)

	Versuchsperson Nr. I		Versuchsperson Nr. II		Versuchsperson Nr. III	
	Erythrocyten in Mill.	Hb. in %	Erythrocyten in Mill.	Hb. in %	Erythrocyten in Mill.	Hb. in %
Ausgangswert	5,48	97	4,94	92	5,04	98
Nach Injektion 20 Min.	4,98	95	4,50	90	4,76	96

B. Intravenöse Säureinjektion (Hund).

Ausgangswert	7,12	Millionen Erythrocyten
Nach 3 Minuten	8,34	„ „
„ 10 „	8,04	„ „
„ 20 „	7,27	„ „

Es bieten diese Injektionsversuche interessante Parallelen zu den früher bereits von uns angestellten Versuchen über den Einfluß einer sauren und basischen Kost auf das Blutbild [Arnold (9)].

Wir können jetzt feststellen, daß die Alkaliwirkung im Blute etwa dem Einfluß der O_2-Inhalation, bzw. der Sauerstoffhunger dem der Säureinjektion entspricht. Das ist an sich nicht verwunderlich, denn Sauerstoffmangel führt grundsätzlich zur Säurebildung, ebenso wie die Acidose den Sauerstoffumsatz hemmt.

Fassen wir unsere Ergebnisse kurz zusammen, so ist zu sagen:

Bei Drosselung der O_2-Zufuhr erfolgt ein Anstieg der Erythrocyten und des Hämoglobins, sowohl in Ruhe als auch bei der Arbeit. Der Anstieg während der Arbeit erfolgt schneller und ist höher, wenn eine Maske getragen wird.

Die Steigerung dieser Werte ist als Regulationsmaßnahme zur besseren Sauerstoffversorgung der Gewebe aufzufassen.

Alkalizufuhr (Natrium bicarbonicum, Sepdelen 7) gestattet bei ruhenden und mäßig arbeitenden Personen den Anstieg der Sauerstoffträger hintanzuhalten. Sie entspricht in ihrer Wirkung etwa der Sauerstoffatmung. Alkalisierung läßt also diese Kompensationsmaßnahme noch in Reserve und ermöglicht so eine gewisse Leistungssteigerung.

Durch die Stauung umschriebener Körperregionen wird ebenfalls ein Erythrocyten- und Hämoglobinanstieg ausgelöst. Die dadurch erfolgte vorzeitige Beanspruchung eines Regulationsmechanismus muß sich im Sinne einer Leistungsminderung auswirken.

Aus diesen Versuchen ist zu schließen, daß durch Alkali die sich bei Drosselung der Atmung in Ruhe bereits einstellende Sauerstoffnot und ebenso der Sauerstoffmangel bei leichter Arbeit günstig beeinflußt werden kann. Bei schwerer Anstrengung versagt diese Maßnahme.

Schnüren umschriebener Körperregionen bringt eine vorzeitige Auslösung dieser Regulationsmechanismen mit sich und wird den Sauerstoffhunger beim Atmen gegen einen Filterwiderstand steigern.

Literatur.

1) van Bebber: Diss. Köln 1939. — 2) Dienst: Dtsch. med. Wschr. **1939**, S. 1848. — 3) Krupski: Verh. Naturforsch. Ges. Basel 1941, S. 184. — 4) Durig: In Atzlers Handb. d. Arbeitsphysiol. 1937. — 5) Dienst: Arch. exper. Path. u. Ther. **202**, S. 85. — 6) Dienst: Klin. Wschr. **1941**, S. 858. — 7) Hartwich: Wien. med. Wschr. **1938**, Nr. 46. — 8) Dennig, Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 1931, S. 120 u. 289; Dtsch. med. Wschr. **1937**, I, S. 733. — 9) Arnold: Diss. Köln 1938.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Greifswald.

Über experimentelle Verfärbungen der Haut durch einige Metalle und Metalloide.

Von

Gerhart Urban.

Mit 7 Textabbildungen (8 Einzelbildern).

(Eingegangen am 3. Mai 1943.)

In einer vorangegangenen Arbeit[1] wurde nachgewiesen oder wahrscheinlich gemacht, daß die im Experiment erhaltene Ablagerung des Silber- und Goldpigmentes in der Haut durch einen Reduktionsvorgang zustande kommt, welcher, soweit die bisherigen Untersuchungen ein Urteil darüber zulassen, im wesentlichen durch die Sulfhydrilkörper der Haut ausgelöst und durch Belichtung beschleunigt wird.

Es lag nahe, Untersuchungen darüber anzustellen, ob die Haut unter dem Einfluß der Bestrahlung auch aus Verbindungen anderer Metalle und Metalloide sichtbare Niederschläge zu erzeugen vermag, vor allem deshalb, weil hierdurch die Grundlage für die in der vorigen Arbeit ausgesprochene Vermutung verbessert werden würde, daß die belichtete Haut eine entgiftende Wirkung hat. Außerdem erschien es erwünscht, eindeutiger als bisher klarzustellen, daß die Sulfhydrilkörper der Haut für die Entstehung solcher Ablagerungen wesentlich sind.

Meine Untersuchungen erstrecken sich auf Verbindungen der Elemente Wismut, Quecksilber, Blei, Antimon, Arsen, Selen und Tellur.

I. Erzeugung sichtbarer Metall- und Metalloidniederschläge in der belichteten Haut.

Als Untersuchungsobjekt diente wie in den bisherigen von Ortmann[2] und mir[1] angestellten Versuchen die Haut isolierter Schweine- oder Kaninchenohren, die mit der zu prüfenden Salzlösung durchströmt wurden. Bei einigen Metallverbindungen ließ sich die Durchströmung nicht immer in der gewünschten Weise erreichen. In diesen Fällen wurde die vom Schweineohr abgelöste Haut mit ihrer Unterseite auf die Salzlösung gelegt. Den Versuchen am Ohr gingen Modellversuche im Reagensglas vorauf.

[1] Urban: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **199**, 345 (1942). — [2] Ortmann: Ebenda **191**, 12 (1938); **192**, 96 (1939).

Methodisches.

Reagensglasversuche. Um mich zunächst über den Einfluß der Bestrahlung auf die zur Durchströmung verwendeten Substanzen zu vergewissern, setzte ich deren Lösungen sowohl für sich wie auch nach Zugabe eines SH-Körpers in rotierenden Quarzgläsern in der von Wels[3] angegebenen Apparatur bei Wasserkühlung in einem Abstande von 17 cm dem Quarzlampenlicht aus. Die entsprechenden Kontrollproben blieben unter sonst gleichen Bedingungen im Dunkeln verwahrt. Als SH-Körper fand wiederum Cysteinhydrochlorid Verwendung. Die Konzentration der Lösungen der untersuchten Stoffe betrug 0,25 und 0,5%. Der Gehalt an Cystein lag zwischen 0,05 und 0,5%. Als Lösungsmittel wurden Wasser, Kochsalz- oder Ringerlösung benutzt. Bei der Neutralisation der Lösungen bildeten sich manchmal Niederschläge. In solchen Fällen wurden auch die ursprünglichen, nicht neutralisierten Lösungen mit untersucht, deren p_H zwischen 2,5 und 10,0 schwankte. Die Bestrahlung dauerte einige Minuten bis 3 Stunden. Zum Zwecke eines groben Vergleichs der Reduktionsfähigkeit der Sulfhydrilgruppe mit der anderer Reduktionsmittel wurden zugleich Proben mit Ascorbinsäure (Konzentration 0,1%) angesetzt.

Durchströmungsversuche am Schweine- und Kaninchenohr. Die Durchströmung erfolgte nach den Angaben von Ortmann[2] und von Krawkow-Pissemski[4]. Als Durchströmungsflüssigkeit wurde leicht angewärmte Kochsalz- oder Ringerlösung (Temperatur 30—32°) verwendet, welche zuvor mit Sauerstoff gesättigt worden war. Die Konzentration der darin gelösten, zu prüfenden Substanzen betrug meist 0,1—0,5%, selten 1%. Bestrahlt wurde mit einer Quecksilberdampflampe im Abstand von 35 cm. Die Ohren wurden mit Schablonen bedeckt, so daß die Ohrhaut nur durch die Schablonenausschnitte vom Licht getroffen wurde, im übrigen aber geschützt war. Die Bestrahlungszeit lag zwischen $^1/_2$ und 5 Stunden, gewöhnlich bei 2—4 Stunden. Durch Ventilatorkühlung wurde einer zu starken Erwärmung der Ohren vorgebeugt.

Versuche an der abgelösten Schweinehaut. Die Hautstücke wurden vorsichtig abgelöst, so weit wie möglich vom Unterhautfettgewebe befreit und dann mit ihren Rändern auf einem in einer Glasschale befindlichen Korkrahmen befestigt. In die Glasschale wurde soviel angewärmte, mit der zu untersuchenden Substanz versetzte Ringer- oder Kochsalzlösung (manchmal auch einfach wässerige Lösung des Stoffes) gegeben, daß die Unterfläche der Haut allseitig benetzt wurde und somit ein ungehindertes Eindringen der Flüssigkeit in die Epidermis erfolgen konnte. Dabei wurde darauf geachtet, daß die Oberfläche der Haut völlig von Flüssigkeit frei blieb. Die ganze Glasschale wurde wieder mit einer Schablone überdeckt, durch deren Öffnung das Licht auf die Haut fiel. Der Abstand der Hautoberfläche von der Lichtquelle betrug 33 cm.

Bei allen untersuchten Substanzen ergaben sich trotz ihrer chemischen Verschiedenheit schon in den Reagensglasversuchen fast durchweg die gleichen Befunde. Die cysteinhaltigen Proben waren nach der Bestrahlung immer stärker gefärbt als die cysteinfreien. Letztere blieben in einigen Fällen trotz der Bestrahlung völlig farblos. Diesen Vorversuchen entsprechend kam es auch in den Durchströmungsversuchen an den bestrahlten Hautstellen stets zu Verfärbungen, die sich meistens sehr scharf von der unbestrahlten Haut abhoben. Gewisse Unterschiede, die bei den ver-

[3] Wels: Pflügers Arch. **223**, 395 (1930). — [4] Krawkow-Pissemski: zit. bei Schloßmann in Abderhaldens Handb., Abt. IV, Teil 7B, S. 1756 (1935).

schiedenen Verbindungen bemerkbar wurden, lassen es zweckmäßig erscheinen, die Versuchsergebnisse bei den einzelnen Elementen nacheinander zu besprechen.

1. Wismut.

Den einfachen Wismutsalzen haftet der Nachteil an, daß aus ihnen bei starker Verdünnung unlösliche, basische Verbindungen entstehen, welche zu Gefäßverstopfung Anlaß geben und die Durchströmung verhindern. Diesem Übelstand wurde dadurch begegnet, daß ein Wismutammoniumdoppelsalz Verwendung fand, welches praktisch kein basisches Salz bildet: Bismutum-Ammonium citricum. In den Vorversuchen zeigte sich, daß bei der Bestrahlung der Lösung dieses Doppelsalzes schon ohne die Gegenwart von Cystein nach einigen Minuten eine Braunschwarzfärbung einsetzte und sich ein braunschwarzer Niederschlag bildete, in fast gleichem Ausmaße, wie es in der bestrahlten, cysteinhaltigen Lösung der Fall war. Der Unterschied zwischen bloßer Lichtwirkung und kombinierter Licht-Sulfhydrilwirkung kam deutlicher zum Ausdruck, wenn die Strahlung ein Filter passierte, welches das kurzwellige Ultraviolett nicht hindurchtreten ließ (BG 19)*. Die Bestrahlungszeit mußte dabei stark verlängert werden. Es blieb dann aber die cysteinfreie Wismutsalzlösung farblos, während die cysteinhaltige deutliche Braunfärbung zeigte. Die unbestrahlten Kontrollproben blieben in allen Fällen farblos. Die zum Vergleich herangezogene Ascorbinsäure verfärbte die Wismutlösungen viel weniger.

Abb. 1. Schweineohr, mit Wismutammoniumcitrat-Kochsalzlösung durchströmt, UV.-Bestrahlung durch eine Schablone. Bestrahlungszeit $2^1/_2$ Stunden. An bestrahlter Stelle braune Verfärbung. Unbestrahlte Haut fast unverändert weiß.

In den bestrahlten Hautbezirken der mit Wismutlösung (p_H 5,5—6,0) durchströmten Ohren entstanden braune bis grauschwarze Verfärbungen von großer Beständigkeit, die sich scharf von der unbestrahlten Haut abhoben. Diese hatte höchstens einen kaum wahrnehmbaren hellgrauen Farbton angenommen und dunkelte nur bei langem Liegenlassen allmählich ein wenig nach. Der Einfluß der Bestrahlung auf die Wismutverfärbung ließ sich also sehr deutlich erkennen, was aus der Abb. 1 ersichtlich wird.

* Nachtrag 5990 zur Liste Nr. 4777 der „Jenaer Farb- und Lichtfiltergläser" von Schott u. Gen., Jena.

Bei der mikroskopischen Untersuchung der verfärbten Haut* fanden sich die Wismutniederschläge als braunschwarzer Saum in der Epidermis, während in der unbestrahlten Haut keine Einlagerungen festzustellen waren (Abb. 2). Es handelte sich um feine, dunkle Körnchen, die in den Zellzwischenräumen der Epidermis und auch ihrer Anhangsgebilde (Haarbälge. Drüsen) lagen. Sie ließen die Zellgrenzen scharf hervortreten, so

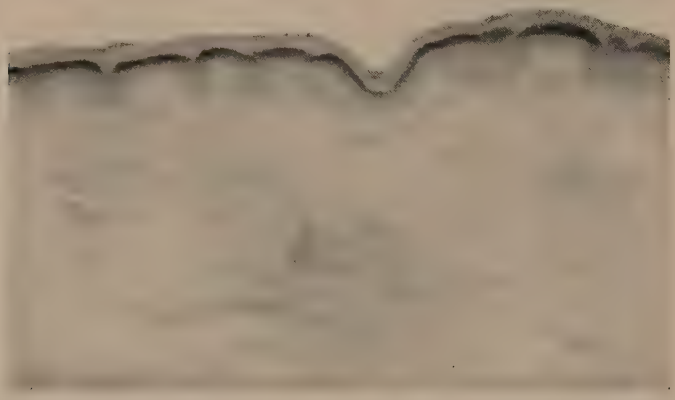


Abb. 2a. Schweineohr mit Wismutammoniumcitrat-Ringerlösung durchströmt und UV.-bestrahlt. Dauer der Bestrahlung $2^1/_2$ Stunden. Hautgefrierschnitt, etwa 50 μ dick, mittlere Vergrößerung. Starke Wismutablagerung in der Epidermis, als Saum sichtbar.

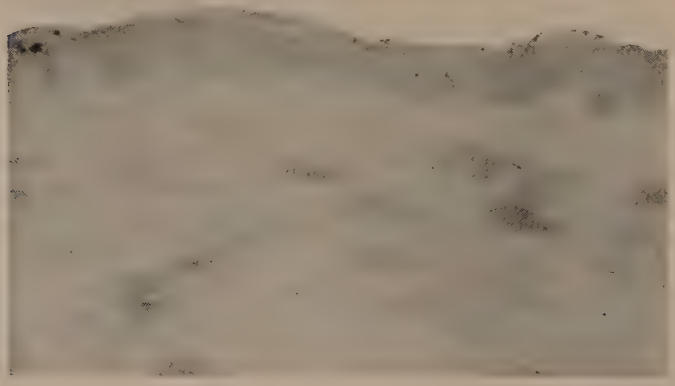


Abb. 2b. Wie 2a, aber unbestrahlt. Keine Wismutablagerung in der Epidermis.

daß die wabenförmige Struktur der Epidermis besonders an den Stellen, wo viel Wismut vorhanden war, sehr deutlich wurde (Abb. 3). Das Corium und das subcutane Bindegewebe war wesentlich schwächer gefärbt. Hier waren vor allem die Papillen von der Einlagerung betroffen.

---

* Die Schnitte wurden sämtlich im Pathologischen Institut der Universität Greifswald hergestellt. Dem Direktor, Herrn Prof. Dr. Loeschcke, danke ich für seine Erlaubnis, die Einrichtungen des Instituts benutzen zu dürfen.

Zur Entscheidung der Frage, ob das Wismut, wie anzunehmen war, als Metall in der Epidermis niedergeschlagen worden war, schien mir am ehesten die Reaktion mit Goldchlorid brauchbar. Dieses wird durch elementares Wismut, ebenso wie durch Antimon, zu metallischem Gold reduziert. Die Reaktion wurde so ausgeführt, daß durch die wismuthaltigen Schnitte nach dem Wässern 1 %ige, gelb gefärbte Goldnatriumchloridlösung mit Fließpapier hindurchgesaugt wurde. Die Goldlösung ließ ich während ständiger Beobachtung im Mikroskop kurze Zeit einwirken und verdrängte sie dann wieder durch Wasser. In wenigen Minuten

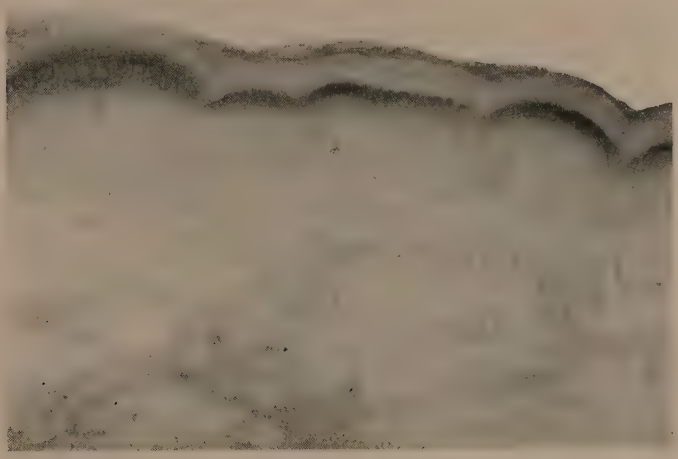


Abb. 3. Dasselbe wie 2a. Stärkere Vergrößerung.

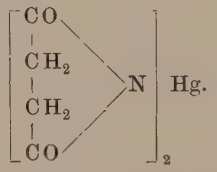
entstanden an denjenigen Stellen der Epidermis, an denen zuvor starke, braunschwarze Wismutansammlungen zu sehen waren, violette bis violettschwarze Niederschläge von Metallgold, während die weniger verfärbten Bezirke der Epidermis nur einen rötlichen Farbton annahmen. Die wismutfreien Partien der Epidermis behielten ebenso wie ein wismutfreier Vergleichsschnitt zunächst die gelbliche Farbe der Goldlösung eine Zeitlang bei. Bei längerer Einwirkungsdauer wurde aber allmählich auch dort das Goldsalz reduziert, wohl deshalb, weil nun die reduzierenden Substanzen der normalen Epidermis wirksam wurden, wobei der Zutritt des Tageslichtes verstärkend wirkte. Der Unterschied hinsichtlich der Zeitdauer bis zum Eintritt der Reaktion und der Stärke ihres Ausfalles war aber zwischen wismuthaltiger und wismutfreier Epidermis doch so stark, daß das abgelagerte Pigment mit großer Wahrscheinlichkeit als metallisches Wismut angesehen werden konnte.

Die unter der Strahleneinwirkung am durchströmten Schweineohr erzeugten Wismutverfärbungen der Haut lassen sich zu den durch Wismut beim Menschen hervorgerufenen Hautverfärbungen in gewisse Beziehung setzen, weil auch bei diesen mitunter die unbedeckte Gesichtshaut am

meisten ergriffen ist (Forst[5]). Nach langdauernder, innerlicher oder parenteraler Anwendung von Wismutpräparaten kann die gesamte Körperhaut schiefergrau bis graublau gefärbt sein, in ähnlicher Weise, wie es bei der Argyrie der Fall ist (Ogawa[6], Gougerot und Blum[7]). Lueth, Sutton, Mullen und Muehlberger[8], die Gelegenheit hatten, eine nach oralem Gebrauch von Wismut entstandene, an Gesicht, Hals und Händen besonders ausgeprägte, generalisierte Wismutverfärbung zu sehen, schlagen in Analogie zur Argyrie die Bezeichnung „Bismuthia" dafür vor. Das Wismut wurde von ihnen in der Haut chemisch nachgewiesen. Über die Form, in der es sich befand, werden keine näheren Angaben gemacht. Es wird nur erwähnt, daß in der Cutis kleine, metallische Körnchen zu finden waren.

2. Quecksilber.

Lösliche Quecksilbersalze, mit denen ich meine Versuche begann, setzten auch in starker Verdünnung, wahrscheinlich infolge ihrer Koagulationswirkung und der dadurch bedingten Verstopfung der Gefäße, der Durchströmung so erheblichen Widerstand entgegen, daß die Versuche mißlangen. Ich ging deshalb zur Verwendung organischer Quecksilberverbindungen über und benutzte das Formamidquecksilber: $(H \cdot CO \cdot NH)_2 Hg$, und das Succinimidquecksilber:



Beide Substanzen sind zur Behandlung der Lues gebraucht worden. Sie bringen Eiweiß nicht zur Ausflockung und haben dementsprechend keine ätzende Wirkung. Ich stellte beide Verbindungen aus Sublimat her und hielt sie in Lösungen vorrätig, deren Quecksilbergehalt, bezogen auf Sublimat, 2% betrug.

Zur Herstellung des Formamidquecksilbers wurde eine Lösung von 10 g Sublimat in 250 g Wasser unter Umschütteln in verdünnte Natronlauge eingegossen. Nachdem das gefällte Quecksilberoxyd dekantierend chlorfrei gewaschen worden war, wurde es in wässeriger Suspension schwach erwärmt und tropfenweise mit soviel Formamid versetzt, wie zur Auflösung des Quecksilberoxyds eben notwendig war. Die erhaltene Lösung wurde filtriert und mit Wasser auf 500 g aufgefüllt. — Das Succinimidquecksilber wurde in fast gleicher Weise bereitet, nur mußte beim Versetzen der wässerigen Quecksilberoxydaufschwemmung mit der Succinimidlösung längere Zeit fast bis zum Sieden erhitzt werden, ehe das Oxyd in Lösung ging.

---

[5] Forst: in Heffters Handb. exper. Pharmak., Bd. III, 4, S. 2550 (1935). — [6] Ogawa: Jap. J. Derm. a. Ur. **32**, Abstracts S. 30 (1932). — [7] Gougerot u. Blum: Bull. Soc. franç. Derm. **42**, 276 (1935). — [8] Lueth, Sutton, Mullen u. Muehlberger: Arch. int. Med. (Am.) **57**, 1115 (1936).

Im Reagensglas entstand unter der Strahlenwirkung beim Formamidquecksilber schon ohne Cysteinzugabe eine leichte, weißlichgraue Trübung. Die cysteinhaltige Probe wurde aber sehr viel stärker (grauschwarz) gefärbt und bildete an der Glaswand einen schwarzen Belag. Von den beiden unbestrahlten Kontrollproben blieb die cysteinfreie unverändert klar, die cysteinhaltige war weißlich getrübt. Hervorgehoben sei, daß Ascorbinsäure auf das Formamidquecksilber noch stärker einwirkt als Cystein. Es kam sofort zur Entstehung eines schwarzen Niederschlages, der durch die Bestrahlung nicht mehr verstärkt wurde. Dieses Verhalten der Ascorbinsäure ist im Hinblick auf die Hautversuche von einer gewissen Bedeutung, worauf an anderer Stelle nochmals eingegangen werden soll. — Die Succinimidquecksilberlösung wurde durch Bestrahlung allein kaum beeinflußt. Wenn sie Cystein enthielt, wurde sie grauweiß getrübt und schied an der Glaswand einen schwarzen Belag von metallischem Glanz ab. Von den unbestrahlten Proben war die cysteinhaltige milchig getrübt, die cysteinfreie klar und farblos. Ascorbinsäure wirkte auf Succinimidquecksilber weniger verfärbend als auf das Formamidquecksilber. — Die erhaltenen Niederschläge wurden nach ihrem Verhalten gegenüber verdünnter Salpetersäure, welche sie zur Auflösung brachte, als metallisches Quecksilber angesehen.

Abb. 4. Weiße Kaninchenohren, beide mit Quecksilbersuccinimid-Ringerlösung durchströmt. Streifenförmiger Bezirk 2 Stunden bestrahlt. An den bestrahlten Stellen ausgeprägte, grauschwarze Verfärbung durch niedergeschlagenes Quecksilber. Abgedeckte Haut fast weiß.

Für die Durchströmung mit den Quecksilberlösungen (p_H 7,5—8,0) erwiesen sich Schweineohren als wenig, Kaninchenohren als besser geeignet. Auch bei letzteren war aber der Durchfluß der Lösung stets gehemmt. Trotzdem ließen sich in den bestrahlten Partien scharf begrenzte, braun- bis grauschwarze Ablagerungen hervorrufen, während die unbestrahlte Haut ihre weiße Farbe beibehielt und beim Liegenlassen am Tageslicht

höchstens ganz wenig nachdunkelte (Abb. 4). Auch in der abgelösten Schweinehaut kamen bei langer Bestrahlung Quecksilberablagerungen zustande.

Bei Durchsicht der Schnitte des bestrahlten Hautbezirkes unter dem Mikroskop wurde das Quecksilber in Form schwärzlicher Körnchen in den Intercellularräumen der Epidermis und ihrer Anhangsgebilde gefunden. Im Corium war die Dichte der Ablagerungen geringer, verhältnismäßig am stärksten in den Spitzen der Papillen. Die Bilder zeigten weitgehende Ähnlichkeit mit den beim Wismut erhaltenen (vgl. Abb. 2 und 3). In den Schnitten der unbestrahlten Haut fanden sich verstreut ebenfalls Quecksilbereinlagerungen, aber gröberer Art, die wohl zum größten Teil nachträglich (während der Verarbeitung des Materials) entstanden waren. — Beim Einlegen verfärbter Hautstücke in verdünnte Salpetersäure oder beim Durchsaugen von Salpetersäure durch verfärbte Hautschnitte trat eine starke Farbaufhellung ein. Es kann deshalb angenommen werden, daß die Hautverfärbungen vornehmlich auf die Ablagerung von metallischem Quecksilber zurückzuführen sind, zumal bekannt ist, daß die benutzten Verbindungen leicht metallisches Quecksilber abspalten. Ein Anhaltspunkt dafür, daß Sulfid vorliegen könnte, ergab sich hier ebensowenig wie beim Wismut.

Universelle Hautpigmentierungen durch Quecksilber sind beim Menschen bisher nicht beobachtet worden. Das kann nicht wundernehmen, da wegen der Giftigkeit löslicher Quecksilberverbindungen schwerlich so große Mengen dem menschlichen Körper ohne Schaden einverleibt werden können, wie sie zur Erzeugung eines sichtbaren Quecksilberniederschlages in der Haut notwendig sind. Dagegen sind Quecksilberpigmentationen begrenzten Ausmaßes, im Gesicht und am Hals, hervorgerufen durch jahrelang fortgeführte Einreibungen von Quecksilberverbindungen in Form von Salben oder Gesichtscremes, von mehreren Autoren beschrieben worden, so von Goeckermann[9], Lane[10], Hollander und Baer[11], Freemann[12], Blashill[13], Chargin[14] und Finnerud und Tobin[15]. Durch den chemischen Nachweis von Quecksilber in den betreffenden Salben und Cremes wurde die Annahme, daß die Verfärbungen auf Quecksilber zurückzuführen waren, meist als ausreichend begründet angesehen. In der verfärbten Haut selbst wurde das Quecksilber von Hollander und Baer[11] mit einer „elektromikroqualitativen" Methode und von Goeckermann[9] mit Zenkerscher Jodlösung, durch welche die in der Haut abgelagerten Pigmentkörnchen gelöst werden, nachgewiesen. Aus diesen Beobachtungen läßt sich entnehmen, daß die menschliche Haut

[9] Goeckermann: J. amer. med. Assoc. **79**, 605 (1922); **84**, 506 (1925). — [10] Lane: Arch. Derm. (Am.) **10**, 348 (1924). — [11] Hollander u. Baer: Ebenda **20**, 27 (1929). — [12] Freemann: Ebenda **22**, 938 (1930). — [13] Blashill: J. amer. med. Assoc. **98**, 2200 (1932). — [14] Chargin: Arch. Derm. (Am.) **29**, 462 (1934). — [15] Finnerud u. Tobin: Ebenda **36**, 236 (1937).

befähigt ist, aus den von außen eindringenden Quecksilbersalzen graue oder schwarze Niederschläge zu bilden. Es bedarf dazu allerdings oft jahrelanger Einwirkung im Gegensatz zum kurzfristigen Durchströmungsversuch, in welchem bei Auswahl geeigneter Quecksilberverbindungen solche Niederschläge rasch zur Ausbildung zu bringen sind.

3. Blei.

Die Reagensglasversuche wurden mit wässeriger Bleiacetatlösung durchgeführt, in welcher sich durch die Einwirkung des Kohlendioxyds der Luft immer eine leichte, weiße Trübung oder ein geringer Bodensatz bildet. Zusatz von Cystein oder Ascorbinsäure zu dieser Bleilösung oder Neutralisation derselben mit Natronlauge bewirkte ebenfalls weiße Trübung. Bei der Bestrahlung färbte sich die cysteinhaltige Bleiprobe braun, die cysteinfreie Portion war bedeutend weniger verfärbt. Die mit Ascorbinsäure versetzte Bleiprobe blieb weißlich getrübt wie vor der Bestrahlung.

Da aus Bleiacetat in Cl′-haltiger Lösung das schwer lösliche Bleichlorid entstehen und zusammen mit dem Bleicarbonat Gefäßverstopfung verursachen würde, wurden die Ohrversuche mit einer stark ammoniakalischen Lösung einer komplexen Bleiverbindung vorgenommen. Sie verliefen also unter sehr unphysiologischen Bedingungen.

Die Komplexverbindung wurde folgendermaßen hergestellt: Aus einer konzentrierten Bleiacetatlösung wurde durch Zusatz einer geringen Menge starker Weinsäurelösung das Blei als Tartrat gefällt und durch Ammoniak im Überschuß in die lösliche Komplexverbindung übergeführt. Die stark ammoniakalische Bleilösung wurde dann mit Kochsalzlösung so weit verdünnt, daß sie, bezogen auf Bleiacetat als Ausgangsprodukt, einen Gehalt von 0,5% aufwies.

Die erhaltene Lösung schied zwar allmählich beim Entweichen von Ammoniak ebenfalls einen Niederschlag aus, doch gelang wenigstens im Anfang die Durchströmung immer einigermaßen gut, bis dann nach einiger Zeit die Ohren ödematös wurden. In den Versuchen an der abgelösten Schweinehaut ließ sich eine wässerige Bleiacetatlösung (p_H 5,5) verwenden. In der bestrahlten Haut bildeten sich wiederum braunschwarze Verfärbungen aus, die sich deutlich gegen die unbestrahlte weiße Haut abzeichneten. In den Schnittpräparaten der Epidermis fand sich der Bleiniederschlag ähnlich dem Wismut (Abb. 2 und 3) und dem Quecksilber in feinen, dunklen Körnchen abgelagert, die insgesamt die dunkle Färbung der Haut ergaben.

Die Feststellung, in welcher Form das Blei zur Ablagerung gekommen war, stieß aus Mangel an charakteristischen Reaktionen auf Schwierigkeiten. Bei der Behandlung der verfärbten Hautstücke und -schnitte mit Salpetersäure blaßte die braune Färbung zwar in starkem Maße ab, doch ist der positive Ausfall dieser Reaktion nicht nur für metallisches Blei bezeichnend. Ammoniumnitrat- und Ammoniumchloridlösungen, die metallisches Blei lösen, verminderten bei längerer Einwirkungsdauer die

braunen Niederschläge, besonders in der Epidermis, erheblich, brachten sie jedoch nicht vollständig zum Schwinden. Der Gesamtausfall der Reaktionen macht es immerhin wahrscheinlich, daß, vielleicht neben anderen, schwer bestimmbaren Verbindungen, metallisches Blei vorlag. Bei der starken Affinität zum Schwefel, die das Blei mit dem Silber gemein hat, muß hier aber auch die Möglichkeit einer Bildung von Schwefelblei offengelassen werden.

Die erhobenen Befunde lassen erkennen, daß die Haut von den Gefäßen dargebotenes Bleisalz ohne weiteres aufzunehmen und aus ihm unter dem Einfluß des Lichtes sichtbare Niederschläge abzuscheiden vermag. Diese in der Haut erfolgende Umwandlung von Bleiverbindungen mag in toxikologischer Hinsicht einiges Interesse beanspruchen, obgleich Pigmentierungen größerer Hautbezirke nach innerlicher Bleiaufnahme genau so wenig wie beim Quecksilber zur Beobachtung gelangen dürften. Es sei erwähnt, daß die als Bleikolorit bekannte Veränderung der Haut nach Flury[16] auf einem Spasmus der Hautgefäße und auf einer toxischen Schädigung des Blutes durch das Blei beruht. Niederschläge des Bleimetalls selbst spielen also nach dieser Erklärung beim Bleikolorit keine Rolle, sondern höchstens eisenhaltige Niederschläge, die aus dem Blutfarbstoff stammen. Bei Einwirkung des Bleiacetats von außen her kann es dagegen unter besonderen Bedingungen zur langdauernden Pigmentierung der Haut kommen, wie aus einem Bericht von Guy und Jacob[17] hervorgeht. Die Pigmentierung entwickelte sich in diesem Falle im Anschluß an eine Hautentzündung, welche mit Umschlägen von Bleiacetatlösung behandelt worden war. Nach Abheilung der Dermatitis trat an den mit Bleiessig behandelten Stellen (Gesicht, Hals, Armen und Flanken) eine diffuse, dunkelgraue Verfärbung auf, die monatelang bestehen blieb. Daß es sich um abgelagertes Bleipigment handelte, wurde durch die chemische Untersuchung nachgewiesen. Die Bleiniederschläge fanden sich im Corium, aber zum Teil auch in der Epidermis. Eine Verminderung der Verfärbung konnte durch Verabreichung von Jodkali nur sehr langsam erreicht werden. Es ist denkbar, daß auch die normale Haut bei äußerlicher Anwendung von Bleilösung in gleicher Weise reagieren kann.

4. Antimon.

Als Antimonpräparat fand Brechweinstein Verwendung. Bei der Bestrahlung mit ungefiltertem Licht im Vorversuch wurde die cysteinfreie Lösung nur ganz wenig, die cysteinhaltige stark dunkelbraun gefärbt. Nach Einschaltung des Filters BG 19* in den Strahlengang wurde nur noch in der cysteinhaltigen Brechweinsteinlösung eine Braunfärbung

---

[16] Flury: in Heffters Handb. exper. Pharmak. Bd. III, 3, S. 1827 (1934). — [17] Guy u. Jacob: Arch. Derm. (Am.) 40, 673 (1939).

* Siehe S. 339.

erzielt. Die beiden unbestrahlten Vergleichslösungen waren weißlich getrübt. Ascorbinsäure rief in den Antimonlösungen fast keine Veränderung hervor. Aus den infolge der Bestrahlung verfärbten Lösungen schied sich allmählich ein schwarzbrauner Niederschlag ab, der nach seinem chemischen Verhalten als elementares Antimon angesehen werden mußte. Verdünnte Kaliumpermanganatlösung wurde beim Schütteln mit dem vorher ausgewaschenen Bodensatz entfärbt und Ferricyankaliumlösung durch den Niederschlag so weit reduziert, daß bei Zusatz von Ferrichlorid Bildung von Berliner Blau eintrat. In gelber Goldchloridlösung bildete sich beim Versetzen mit der Suspension des schwarzbraunen Niederschlags unter Violett- bis Blauschwarzfärbung feinst verteiltes Gold. Der Antimonniederschlag war ferner in Königswasser löslich und wandelte sich bei längerer Einwirkung von lufthaltigem Wasser durch Oxydation in grauweiße Verbindungen um.

Die Bestrahlung der Haut des mit Antimonlösung (p_H 5,5—6,0) durchströmten Ohres führte wie beim Wismut (Abb. 1) zur Entstehung brauner Verfärbungen. Kurze Zeit nach Beendigung der Versuche begannen aber die Antimonverfärbungen auffallend rasch abzublassen, woraus geschlossen werden kann, daß der in feiner Verteilung befindliche Antimonniederschlag wenig beständig ist. Wahrscheinlich trägt unter anderem die von außen durch die Haut diffundierende Luft zur Oxydation des Antimons bei; denn es zeigte sich, daß in der Umgebung einer verfärbten Hautpartie, an welcher durch einen Einschnitt mit dem Messer der Luftzutritt ins Gewebe erleichtert wurde, die Aufhellung der Antimonverfärbung besonders rasch vor sich ging. Etwa 10—20 Stunden nach Ablauf der Versuche war in der Regel das Antimonpigment fast völlig verschwunden und nur eine ganz geringe, rötlichbraune Pigmentierung übrig geblieben, wie sie derjenigen entsprach, welche in normaler, nur mit Kochsalz- oder Ringerlösung durchströmter Vergleichshaut nach vielstündiger Bestrahlung hervorgerufen wurde. Daß die Luft bei Anwesenheit von Feuchtigkeit den Antimonniederschlag zur Aufhellung bringt, ging weiter daraus hervor, daß verfärbte Hautstücke, in Wasser eingelegt und der Luft ausgesetzt, bald ihre braune Farbe verloren.

Im mikroskopischen Hautschnitt war der Antimonniederschlag wegen seiner Unbeständigkeit kaum sichtbar zu machen. Es genügte anscheinend schon die für das Gefrierschnittverfahren erforderliche Zeit, um das Antimonpigment verschwinden zu lassen. Nur wenn auf größte Beschleunigung bei der Herstellung der Schnitte Bedacht genommen wurde, ließ sich eine gelbliche bis gelbbraune Verfärbung, hauptsächlich in den oberen Epidermisschichten, erkennen. Aber im Verhältnis zum makroskopischen Befund war der mikroskopische recht gering.

Wie beim Wismut (siehe S. 341) versuchte ich auch hier, mit Hilfe von Goldlösung zu entscheiden, ob das Antimon elementar zur Ablagerung gekommen war. Beim Durchsaugen der Goldnatriumchloridlösung durch

die nur ganz kurz gewässerten Hautschnitte wurde besonders rasch die obere Epidermis, wo der gelbbraune Saum verlief, blauviolett gefärbt, während normale Vergleichshaut sich erst bei längerer Einwirkung der Goldlösung an diesen Stellen so färbte. Es dürfte sich demnach bei den Ablagerungen in der Haut ebenso wie bei den Niederschlägen in den Reagensgläsern um elementares Antimon gehandelt haben. Gegen eine Sulfidbildung sprach beim Antimon, wie auch beim Arsen und Selen, außer dem Ergebnis der durchgeführten chemischen Reaktionen schon die Farbe der erhaltenen Niederschläge.

5. Arsen.

Versuche, arsenigsaures Kalium in Lösung durch Glutathion und Cystein bei gleichzeitiger Bestrahlung mit ultraviolettem Licht zu reduzieren und damit zu entgiften, sind schon von Wels [18] und von Ortmann [2] im hiesigen Institut ausgeführt worden. Es ergaben sich dabei bereits Anhaltspunkte für eine solche Reduktion des Kaliummetarsenits zu elementarem Arsen auf Grund der bei der Bestrahlung eingetretenen Braunfärbung der Lösungen. Ortmann [2], der die Übertragbarkeit des Ergebnisses dieser Vorversuche auf die Haut des durchströmten Ohres prüfte, konnte keinen sichtbaren Befund an der Haut erheben. Ich habe diese Untersuchungen jetzt wieder aufgenommen.

Ich benutzte arsenige Säure, Kaliummetarsenit und Natriumarsenit. In den Vorversuchen hatte die Bestrahlung ohne Gegenwart von Cystein keinen sichtbaren Einfluß auf die Lösungen. In den unbestrahlten, cysteinhaltigen Arsenlösungen fielen bei genügender Konzentration nadelförmige, zu Büscheln vereinigte, weiße Kristalle aus, welche eine Arsen-Cysteinverbindung darstellen. Bei Behandlung der Kristalle mit Bettendorfs oder Bougaults Reagens schied sich braunes bis braunschwarzes Arsen ab. Beim Erhitzen der Kristalle im Glührörchen setzte sich unter Entwicklung von Knoblauchsgeruch Schwefel in feinen Tröpfchen ab. Die Bildung derartiger Arsen-Cysteinverbindungen ist bereits eingehend von Labes [19] und von Johnson und Voegtlin [20] studiert und mit der Entgiftung der Arsenverbindungen sowie dem Angriffspunkt dieser Gifte in der Zelle in Verbindung gebracht worden. Wurde ein Gemisch von Arsenik und Cystein mit der Quarzlampe bestrahlt, so kamen solche weißen, kristallinischen Niederschläge nicht zur Ausbildung, die Lösung nahm vielmehr eine braune Farbe an, schied einen braunen Niederschlag aus und setzte mitunter metallisch glänzende Beläge an der Glaswand ab. Der braune Niederschlag war in Natriumhypochloritlösung löslich und setzte sich mit Kupferchloridlösung zu einer schwärzlichen Verbindung um. Die wässerige Aufschwemmung des Niederschlags entfärbte Kalium-

[18] Wels: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 365 (1938). — [19] Labes: Ebenda **141**, 148 (1929). — [20] Johnson u. Voegtlin: J. biol. Chem. (Am.) **89**, 27 (1930).

permanganatlösung und reduzierte Kaliumferricyanidlösung so weit, daß mit Ferrisalz Berliner Blau erzeugt wurde. Demnach war der unter dem Einfluß der Bestrahlung zur Abscheidung gelangte Niederschlag als elementares Arsen anzusehen. Im Gegensatz zum Cystein übte Ascorbinsäure in den arsenhaltigen Lösungen keine Reduktionswirkung aus.

In der Haut der mit Arsenlösung (p_H 6,0—9,0) durchströmten Ohrmuschel entwickelten sich nach mehrstündiger Bestrahlung braune, scharf vom Unbestrahlten abgesetzte Verfärbungen (Abb. 5). Es sei dabei gleich erwähnt, daß die durch Arsen ebenso wie durch die anderen Metalle und Metalloide hervorgerufenen Niederschläge schon nach verhältnismäßig kurzer Bestrahlungsdauer sichtbar werden. Sie bedürfen jedoch, wenn man sie im Bilde festhalten will, einer Vertiefung, welche nur durch Verlängerung der Bestrahlungszeit erreicht werden kann. Kontrollversuche an mit Ringerlösung durchströmten Ohren ergaben trotz vielstündiger Bestrahlung nur eine Rötung bzw. schwache, postmortale Pigmentation (Meirowsky [21], Lignac [22], Miescher [23]) der bestrahlten Hautstellen.

Abb. 5. Schweineohr, Durchfluß von Natriumarsenit-Ringerlösung, 4 Stunden bestrahlt. Im bestrahlten Bezirk (auch an der unbedeckten Spitze des Ohres) Braunfärbung. Unbestrahlte Haut bleibt weiß.

In gleicher Weise wie die Antimonverfärbung und aus den dort dargelegten Gründen blaßte auch die Arsenfärbung beim Liegenlassen der Ohren ab. Der mikroskopische Befund war deshalb ebenfalls wenig charakteristisch. Es wurde lediglich eine geringe gelbliche oder hellbräunliche Färbung der Epidermis bemerkt. Die makroskopisch gut sichtbare Braunfärbung der Haut nach der Bestrahlung deutete auf die Ablagerung von elementarem Arsen hin. Die Goldchloridprobe, wie bei Wismut und Antimon ausgeführt, ergab an den Hautschnitten, wahrscheinlich durch Bildung von Goldarsenid, schwarzbraune Färbung der Epidermis mit blauvioletter Tönung derjenigen oberen Schichten, in denen die stärksten Arsenniederschläge vermutet werden konnten. Die Ablagerung von

[21] Meirowsky: Frankf. Z. Path. **2**, 438 (1909). — [22] Lignac: Virchows Arch. **240**, 383 (1922). — [23] Miescher u. Minder: Strahlenther. **66**, 6 (1939).

elementarem Arsen in der bestrahlten Epidermis wird dadurch wahrscheinlich gemacht.

Verfärbungen der menschlichen Haut durch Arsen sind noch nicht beschrieben worden, ihre Entstehung erscheint auch wegen der Oxydationsmöglichkeiten im Organismus kaum möglich. Die Arsenmelanose beruht, wie bekannt, nicht auf der Einlagerung von elementarem Arsen in die Haut, sondern auf der gesteigerten Bildung körpereigenen Hautpigments. Dazu findet man allerdings bei der Arsenmelanose und -keratose noch Arsenverbindungen in der Haut, und zwar in der Epidermis und im Corium, wie die Untersuchungen von Osborne[24] zeigen, welcher in keratotisch oder melanotisch veränderter Haut solche Arsenverbindungen als Arsentrisulfid zur Darstellung bringen konnte.

6. Selen.

Natriumselenitlösung färbte sich mit Cystein orangerot. Die Färbung wurde durch Bestrahlung verstärkt. Beim Stehenlassen der Lösungen schied sich ein roter Niederschlag von Selen ab. Zusatz von Ascorbinsäure zur Selenitlösung bewirkte bei neutraler Reaktion selbst nach der Strahleneinwirkung fast keine Verfärbung, während bei saurer Reaktion eine Rotfärbung und Abscheidung von Selen auftrat. Ähnlich verhalten sich Telluritlösungen bezüglich ihrer Schwärzung durch Cystein und Ascorbinsäure. Diese Befunde stimmen mit den von Levine und Rosenthal[25] erhobenen überein. Die zusatzfreien Selenitlösungen blieben auch bei der Bestrahlung klar und farblos. — Die mit Selenitlösung (p_H 8,0) behandelte und bestrahlte Ohrhaut nahm hochrote, die unbestrahlte nur Rosafärbung an. Der Farbunterschied zwischen bestrahlter und unbestrahlter Haut war während und unmittelbar nach der Bestrahlung deutlich zu sehen, verwischte sich dann aber so rasch, daß die gesamte Haut einheitlich rot gefärbt aussah. Im mikroskopischen Bilde war die Rosafärbung am stärksten in der Epidermis und ihren Anhängen ausgeprägt, weniger im Corium und dem subcutanen Bindegewebe. Ein Unterschied zwischen bestrahlter und unbestrahlter Haut war nicht mehr zu erkennen. Die rote Farbe der Haut spricht für die Anwesenheit von elementarem Selen.

7. Tellur.

Daß Natriumtellurit durch die Sulfhydrilgruppen der Haut zu schwarzem Tellur reduziert wird und somit zum Nachweis der Sulfhydrilgruppen in der Haut dienen kann, ist bereits durch die eingehenden Untersuchungen von Wels[18] und Ortmann[2] dargelegt worden. Auch in der menschlichen Haut findet diese Reduktion statt. Bei Versuchen, die der

---

[24] Osborne: Arch. Derm. (Am.) **12**, 773 (1925). — [25] Levine u. Rosenthal: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **31**, 1092 (1934).

Einführung des Tellurs in die Therapie dienen sollten, wurden an verschiedenen Versuchspersonen von Fournier, Levaditi und Guénot[26], Stanziale[27] und Guénot[28] bläuliche Verfärbungen der Haut beobachtet. Bei meinen Untersuchungen bediente ich mich der Telluritmethode unter einem anderen Gesichtspunkt, der weiter unten ausführlich dargelegt werden wird.

II. Nachweis des den Sulfhydrilgruppen zufallenden Anteiles an der Ausbildung der Hautverfärbungen.

1.

Um darzulegen, daß die Sulfhydrilgruppen an der Bildung der beschriebenen Metall- und Metalloidniederschläge in der belichteten Haut entscheidend beteiligt sind, muß man nachweisen, daß die Verfärbungen nach Ausschaltung der SH-Gruppen ausbleiben. Vorzügliche Eignung zu einer solchen Ausschaltung der SH-Gruppen der Haut besitzt die Monojodessigsäure, besonders deshalb, weil sie beim p_H der Gewebe fast elektiv die Sulfhydrilgruppe angreift, während sie das Reduktionsvermögen anderer körpereigener Stoffe unbeeinflußt läßt.

Nach den grundlegenden Untersuchungen von Lundsgaard[29] über die Wirkung der Jodessigsäure auf die Muskelaktion und auf die Hefegärung haben Rapkine[30] und Dickens[31] gezeigt, daß die Jodessigsäure mit der SH-Gruppe nach der Gleichung reagiert:

$$R{-}SH + J \cdot CH_2 \cdot COONa = HJ + S\begin{matrix} R \\ \diagdown\!\diagup \\ CH_2COONa. \end{matrix}$$

Wirksames Sulfhydril kann aus dem gebildeten, stabilen Produkt R—S—R′ (dem substituierten Thioäther) nicht mehr entstehen im Gegensatz zu den durch Dehydrierung der Thiole entstehenden Disulfiden (R—S—S—R), die sich wieder in die R—SH-Form aufspalten lassen. Die SH-Gruppe wird also durch Monojodacetat „vergiftet". Das Reduktionsvermögen der Ascorbinsäure, das ja nicht auf der SH-Gruppe beruht, wird dagegen durch Monojodacetat nicht beeinflußt, wenigstens nicht im physiologischen p_H-Bereich.

Für meine Untersuchungen suchte ich zunächst einen Anhaltspunkt über den Einfluß des Monojodacetats auf die SH-Gruppe des Cysteins zu gewinnen, unter Verwendung des Natriumtellurits als Indikator. Bei Bestrahlung einer Tellurit-Cysteinmischung setzt bald die Reduktion zu Tellur ein, die an der ausgeprägten Braunschwarzfärbung kenntlich ist. Eine bestrahlte, cysteinfreie Lösung von Natriumtellurit bleibt unter den gleichen Bedingungen fast farblos. Wurde nun die Cysteinlösung $^1/_2$ bis 2 Stunden vor dem Zusammenbringen mit dem Natriumtellurit mit Mono-

[26] Fournier, Levaditi u. Guénot: Ann. Inst. Pasteur, Par. **41**, 443 (1927). — [27] Stanziale: Riforma med. **44**, 1652 (1928). — [28] Guénot: Paris méd. **1929**, S. 218. — [29] Lundsgaard: Biochem. Z. **217**, 162 (1930); **220**, 1 (1930); **250**, 61 (1932). — [30] Rapkine: C. r. Soc. Biol. **85**, 790 u. 1294 (1933). — [31] Dickens: Biochem. J. (Brit.) **27**, 1141 (1933).

jodacetat versetzt (Konzentration an Cystein 0,05 %, an Jodacetat 0,15 %) und das Gemisch dann nach Hinzufügen von 0,1 % Natriumtellurit der Einwirkung des ultravioletten Lichtes unterworfen, so wurde es nur leicht braun gefärbt. Die Hemmbarkeit der reduzierenden Eigenschaft des Cysteins durch Jodessigsäure war also in diesem Vorversuch gut zu erkennen.

An der Haut konnte ebenfalls eine weitgehende Ausschaltung der Sulfhydrilkörper durch Jodacetat erreicht werden. Zu diesem Zweck wurde eine Lösung von 0,5 % Natriummonojodacetat in 0,9 %iger NaCl-Lösung (p_H 6,0) $^1/_2$—1 Stunde lang durch die Schweine- oder Kaninchenohren hindurchgeleitet. Nach der Entfernung des überschüssigen Jodacetats durch Nachlaufenlassen von Kochsalzlösung während einer Dauer

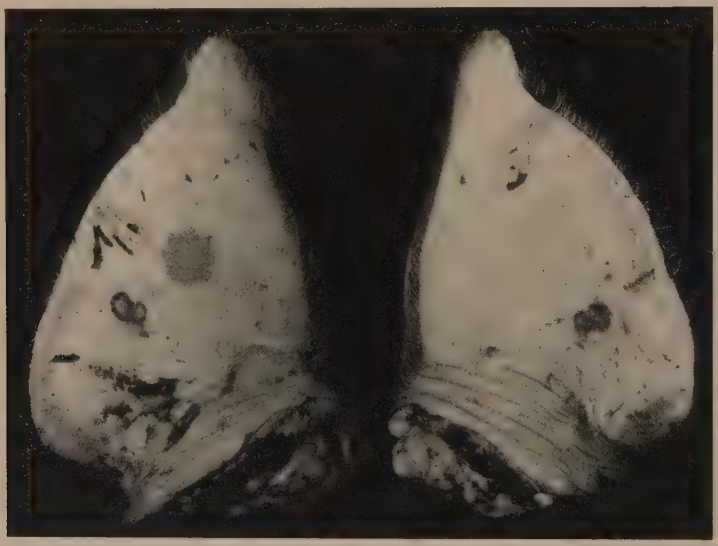


Abb. 6. Linkes Ohr unvergiftet. Rechtes Ohr mit Monojodacetat vergiftet. Bei Durchlauf von Brechweinstein-Kochsalzlösung und UV.-Bestrahlung durch sternförmige Schablone erscheint im unvergifteten Ohr der Antimonniederschlag, im vergifteten Ohr bleibt er aus.

von 10—15 Minuten wurden die Ohren anschließend mit 0,05—0,2 %iger Natriumtellurit-Kochsalzlösung (p_H 7,5—9,0) durchströmt. Ein Stück der Ohrhaut wurde während des Telluritdurchstroms $^1/_2$—2 Stunden lang der Einwirkung des ultravioletten Lichtes ausgesetzt. Dabei zeigte sich, daß die Haut der mit Jodacetat behandelten Ohren fast unverändert weiß blieb oder höchstens hellgrau gefärbt wurde, und zwar nicht nur im unbestrahlten, sondern auch im bestrahlten Gebiet. Einige Male war allerdings im bestrahlten Bezirk eine etwas tiefere, bräunliche Verfärbung zu erkennen. Die Haut der ohne Jodacetat vorbehandelten Vergleichsohren wies die charakteristische grauschwarze bis tiefschwarze Tellur-

verfärbung auf, die sich im bestrahlten Abschnitt anfangs stärker hervorhob, nach einiger Zeit aber durch die Färbung der unbestrahlten Haut aufgeholt wurde.

Auch bei der Verwendung einiger in der vorliegenden Arbeit benutzter Metallverbindungen zeigte sich deutlich, daß die Verfärbungen nach Vorbehandlung der Haut mit Monojodacetat stark vermindert waren oder ganz fehlten. Bei Verwendung von 0,5%iger Brechweinstein-Kochsalzlösung blieb in der mit Jodacetat vorbehandelten Ohrhaut der Antimonniederschlag gänzlich aus (Abb. 6). Bei Wismutammoniumcitratlösung zeigten sich in der durch Jodacetat vergifteten Haut zwar noch Wismutniederschläge, doch waren diese im Vergleich zu denen der unvergifteten Ohrhaut stark vermindert. Zur Erklärung dieses Restbefundes bei Wismut wird man an die im Vorversuch erwiesene Lichtempfindlichkeit des Wismutdoppelsalzes denken und die geringe Wismutablagerung in der vergifteten Haut auf das Konto der bloßen Lichtwirkung setzen müssen. Ein noch geringerer Anteil als beim Wismut dürfte dieser bloßen Lichtwirkung bei der Entstehung der Quecksilber- und Bleiniederschläge zukommen. Weiterhin muß auch daran gedacht werden, daß beim Eintreten einer restlichen Verfärbung trotz voraufgegangener Vergiftung des Hautsulfhydrils durch Monojodacetat der Gehalt der Haut an Ascorbinsäure eine Rolle spielen könnte. Es wurde ja beim Formamidquecksilber gezeigt, daß Zusatz von Ascorbinsäure zur Abscheidung von metallischem Quecksilber führt. Im allgemeinen aber wird durch die Monojodacetatversuche klar erwiesen, daß bei den Hautverfärbungen den Sulfhydrilkörpern der Hauptanteil zukommt. Mit Hilfe der Monojodessigsäure kann man also diejenigen Lichtwirkungen, bei denen das Hautsulfhydril entscheidend beteiligt ist, von solchen Wirkungen abgrenzen, an denen andere reduzierende Substanzen teilnehmen, oder die ohne die Mitwirkung reduzierender Substanzen allein durch das Licht selbst hervorgebracht werden.

2.

In gleicher Weise, wie man nach einem Vorlauf von Monojodacetat die eingetretene Vergiftung des Hautsulfhydrils im durchströmten Ohr dadurch nachweisen kann, daß beim Nachlauf von Tellurit die Schwarzfärbung stark vermindert ist oder ganz ausbleibt, kann man auch andere Substanzen auf ihre Fähigkeit prüfen, die SH-Gruppen zu binden. Wir bezeichnen dieses Verfahren als „Tellurit-Nachlaufmethode“. Es ist natürlich nur dann anwendbar, wenn der vorlaufende Stoff bei der Reaktion mit dem Sulfhydril unter dem Einfluß der Belichtung nicht selbst bereits eine starke Hautverfärbung erzeugt, wie es bei den von mir untersuchten Schwermetallverbindungen der Fall war. Wenn aber solche Hautverfärbungen nur etwas schwächer ausgeprägt sind als die durch Tellurit erzeugten, bzw. einen helleren Farbton haben als diese, gewinnt man

schon sehr eindrucksvolle Bilder. Ein solches Verhalten lag besonders bei den Verbindungen des Arsens und des Antimons vor. Ohne Bestrahlung riefen diese Stoffe keine Hautverfärbungen hervor. Nur an den bestrahlten Stellen zeigte sich, wie beschrieben, eine leichte Bräunung. Das nachlaufende Tellurit erzeugte eine Schwärzung der unbestrahlten Haut, die allerdings etwas hinter der eines mit Kochsalzlösung vordurchströmten Kontrollpräparates zurückblieb. An der während des Vorlaufs der Arsen- oder Antimonlösung bestrahlten und durch Metalloidabscheidung hellbraun gefärbten Stelle war dagegen der Unterschied gegenüber dem Kontrollpräparat deutlich: sie erschien als helle Aussparung in der durch Tellur geschwärzten übrigen Haut (Abb. 7) und zeigte dadurch an, daß in ihr keine telluritreduzierenden Gruppen mehr vorhanden waren.

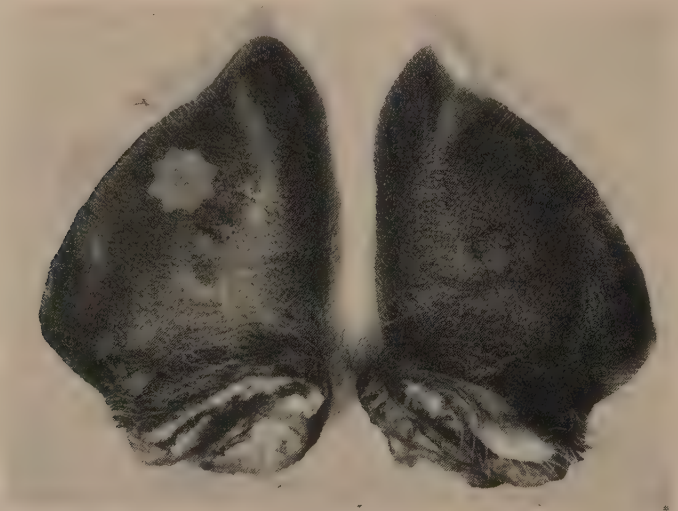


Abb. 7. Nachweis des Sulfhydrilverbrauchs mit der „Tellurit-Nachlaufmethode". UV.-Bestrahlung durch gleiche Schablonen, links bei Durchlauf von Arseniklösung, rechts bei Durchlauf von Kochsalzlösung. Danach Durchströmung mit Tellurit. Die für SH charakteristische Schwarzfärbung bleibt an der bestrahlten Stelle des Arsenikohres aus.

Diese Versuche beweisen von einer anderen Seite her die überwiegende Bedeutung des photoaktivierten Hautsulfhydrils für das Zustandekommen der Hautverfärbungen durch Metalle und Metalloide. Die Telluritreduktion ist zwar grundsätzlich als unspezifischer Vorgang aufzufassen, es hat sich aber ergeben, daß beim p_H und der Temperatur der Gewebe die telluritreduzierende Wirkung anderer körpereigener Reduktionsmittel, insbesondere solcher vom Typ der Ascorbinsäure, so stark hinter der des Sulfhydrils zurücktritt, daß der positive Ausfall der Telluritprobe praktisch für den Nachweis von Sulfhydrilgruppen genügt. Das geht aus den bereits angeführten Untersuchungen von Levine und Rosenthal[25] hervor, von

denen ausgehend später Wels [18] die Methode für die Haut nutzbar gemacht hat. Es ist deshalb auch der negative Ausfall der Telluritprobe als ausreichender Beweis dafür anzusehen, daß an diesen Stellen das Hautsulfhydril zuvor verbraucht worden ist.

Wie schon in der ersten Veröffentlichung [1] hervorgehoben wurde, können die Metall- (und Metalloid-)Verfärbungen mit Wahrscheinlichkeit als Ausdruck der entgiftenden Funktion der Haut aufgefaßt werden. Es erscheint aussichtsreich, diese Wirkung der bestrahlten Haut auf breiterer Basis zu untersuchen, wobei die Telluritnachlaufmethode von Nutzen sein könnte, weil sie es gestatten würde, auch dann eine voraufgegangene Beschlagnahme des Hautsulfhydrils nachzuweisen, wenn diese sich nicht von selbst durch eine Hautverfärbung kenntlich macht. Letzteres aber dürfte in der Hauptsache auf die Metall- und Metalloidgifte beschränkt sein, während es wahrscheinlich ist, daß noch mancherlei Gifte ganz anderer Art mit dem Sulfhydril reagieren, ohne aber diese Reaktion durch Färbungen zu verraten.

Die Brauchbarkeit der Methode hängt natürlich davon ab, daß nicht etwa schon die Bestrahlung allein (ohne gleichzeitigen Durchlauf einer sulfhydrilverbrauchenden Substanz) die SH-Gruppen der Haut vernichtet. Das kann mitunter, wie Wels [18] früher gezeigt hat, der Fall sein, besonders dann, wenn die Haut vor der Bestrahlung schon längere Zeit gelegen hat. Die SH-Gruppen in der Haut des frischen Ohrpräparates sind aber gegen Bestrahlung von der hier angewandten Zeitdauer ziemlich widerstandsfähig. Das rechte Ohr der Abb. 7 wurde in gleicher Weise wie das linke Ohr durch eine sternförmige Schablone bestrahlt, es floß nur an Stelle der Arseniklösung Kochsalzlösung durch das Präparat. Bei der nachfolgenden Telluritdurchströmung blieb zwar anfangs der bestrahlte Hautbezirk in der Intensität der Verfärbung gegenüber der unbestrahlten Haut zurück, aber nach einiger Zeit war nichts mehr von der sternförmigen Aussparung sichtbar, ein Zeichen dafür, daß die SH-Gruppen im bestrahlten Bezirk zum größten Teil erhalten und ebenso reduktionswirksam geblieben waren wie im übrigen Ohr.

III. Bemerkungen zu den Versuchsergebnissen.

1.

Vor der Ausbildung sichtbarer Niederschläge, die als Endprodukt eines Reduktionsvorganges aufzufassen sind, kommt es offenbar zu Anlagerungen der zugeführten Stoffe an das Hautsulfhydril. Solche Anlagerungen finden sicher schon in der unbestrahlten Haut statt; denn es ergibt sich mit der Telluritnachlaufmethode, daß auch dort eine geringe Verminderung des Reduktionsvermögens gegenüber dem Kontrollpräparat eintritt. Die Neigung von Cystein und Glutathion zur Bildung von Metall-

und Metalloidverbindungen vorwiegend komplexer Natur ist an vielen Beispielen studiert worden, so für Gold von Voegtlin, Johnson und Dyer [32], für Arsen von Labes [19] sowie von Johnson und Voegtlin [20], für Kobalt von Schubert [33], für Kupfer von Kozlowski [34], für Silber, Cadmium, Quecksilber und Arsen von Voegtlin, Johnson und Rosenthal [35], für Blei von Klement [36], für Zink von Eisenbrand und Wegel [37] u. a. Man kann annehmen, daß die unbelichtete Haut im allgemeinen bei diesen Vorstufen, d. h. Metall- oder Metalloidkomplexverbindungen, stehen bleibt, wenn ihr eine vollständige Reduktion nicht möglich ist. Letztere gelingt, dem Auge sichtbar, der unbelichteten Haut ja nur in einigen Fällen, so bei Selen, Tellur und Silber. Eine solche bloße Koppelung mit dem Sulfhydril würde aber auch schon ausreichen, um eine Reihe von Giften ihrer Wirksamkeit zu berauben. Nach den Arbeiten von Labes [19] sowie von Voegtlin und seinen Mitarbeitern [20, 38–40] gelingt es z. B., im Tierversuch den entgiftenden Einfluß des Sulfhydrils gegenüber den Verbindungen des dreiwertigen Arsens zu zeigen. In ähnlicher Weise haben Fujino [41] eine Entgiftung von Quecksilber und Salvarsan und Launoy [42, 43] von Antimon an Mäusen erzielt.

Die belichtete Haut führt dagegen mit ihren photoaktivierten Sulfhydrilkörpern den Reduktionsvorgang ohne Schwierigkeiten bis zur Abscheidung der Metalle und Metalloide durch, und es bedarf bis zum Auftreten der Pigmentierungen, wie schon erwähnt, durchaus nicht etwa langdauernder Strahleneinwirkung.

Nach dem derzeitigen Stand unserer Kenntnisse kann man Metalle und auch diejenigen Metalloide, welche hier in Betracht zu ziehen sind, im elementaren Zustand im allgemeinen als ungiftig für den Organismus ansehen, gleichgültig, ob es sich dabei um Arsen, Kupfer, Quecksilber, Silber, Gold oder ähnliche handelt. Inwieweit eine solche Entgiftung durch vollständige Reduktion bis zur elementaren Form allerdings praktisch wirksam werden kann, hängt davon ab, in welchem Umfange und mit welcher Schnelligkeit die in feinster Verteilung befindlichen Niederschläge im Körper wieder gelöst werden. Bei den Metalloiden wird eine Auflösung zweifellos rascher vor sich gehen als bei den Metallen. Nach einer Arbeit von Mascherpa und Callegari [44] kommen elementares

---

[32] Voegtlin, Johnson u. Dyer: Proc. nat. Acad. of Sci. U. S. A. **11**, 344 (1925). — [33] Schubert: J. amer. chem. Soc. **53**, 3851 (1931); **55**, 3336 (1933). — [34] Kozlowski: Biochem. Z. **242**, 249 (1931). — [35] Voegtlin, Johnson u. Rosenthal: J. biol. Chem. (Am.) **93**, 435 (1931). — [36] Klement: Ber. dtsch. chem. Ges. **66**, 1312 (1933). — [37] Eisenbrand u. Wegel: Hoppe-Seylers Z. **268**, 26 (1941). — [38] Voegtlin, Dyer u. Leonard: J. Pharmacol. (Am.) **25**, 297 (1925). — [39] Rosenthal u. Voegtlin: Ebenda **39**, 246 u. 347 (1930). — [40] Voegtlin, Rosenthal u. Johnson: Publ. Health-Rep. (Am.) **46**, 339 (1931). — [41] Fujino: Fol. pharmacol. jap. **10**, Breviaria S. 12 u. 14 (1930). — [42] Launoy: C. r. Acad. Sci. Paris **199**, 646 (1934). — [43] Launoy: Bull. Soc. Chim. biol. (Fr.) **17**, 1022 (1935). — [44] Mascherpa u. Callegari: Arch. ital. Sci. biol. **18**, 438 (1933).

Arsen, Antimon und Wismut als feinste Pulver in Gegenwart von Eiweißstoffen sogar bei Luftabschluß zur Lösung unter Bildung komplexer Proteinverbindungen, die giftig wirken. Arsen wird am meisten, Antimon weniger und Wismut am wenigsten gelöst. Bei Blei und Quecksilber dürfte die Löslichkeit wiederum größer sein als bei Silber oder gar bei Gold, welch letzteres wohl als praktisch unlöslich angesehen werden kann. Durch solche Vorgänge kann der durch die Hautthiole herbeigeführte Entgiftungseffekt teilweise oder ganz wieder rückgängig gemacht werden. Der Organismus ist aber dann wenigstens vorübergehend von der Giftwirkung entlastet gewesen und kann nun bei der langsamen Wiederentstehung des Giftes dieses leichter durch die Ausscheidungsorgane entfernen.

2.

Die Sulfhydrilgruppe ist, was zahlreiche Untersuchungen ergeben haben, für die Zelle lebensnotwendig. Sie ist einer der Hauptträger des charakteristischen Reduktionsvermögens aller lebenden Substanz. Am besten aufgeklärt ist durch die Arbeiten von Graßmann[45], von Waldschmidt-Leitz[46] und von Hopkins[47] ihre Bedeutung als Aktivator verschiedener Fermente. Sie ist ferner wichtig für die energieliefernden Reaktionen (Hopkins[48]) und vielleicht auch für das Wachstum (Hammett[49]). Die Entgiftung von Metall- und Metalloidverbindungen, welche mit einem Verbrauch von SH-Gruppen einhergeht, gibt deshalb zugleich einen Einblick in den Wirkungsmechanismus der genannten Gifte. Dieser Zusammenhang ist durch die Arbeiten von Labes[19] und von Voegtlin und seinen Mitarbeitern[20, 39, 40] am besten beim Arsen aufgeklärt. Dazu ist hier eine Arbeit von Eagle[50] zu erwähnen, welcher fand, daß in vitro Sulfhydrilverbindungen bei ausreichender Menge die spirochätentötende Wirkung von Arsen-, Wismut- und Quecksilberverbindungen aufheben, und hiernach vermutet, daß der Angriffspunkt dieser Mittel in der Spirochätenzelle die Sulfhydrilgruppe sei.

Es wurde nun schon in der vorigen Arbeit[1] die Möglichkeit in Betracht gezogen, daß die Haut überschüssige Sulfhydrilgruppen enthält, die vielleicht ohne wesentlichen Schaden verbraucht werden können. Man könnte sie, besonders weil sie im Gegensatz zu den SH-Gruppen des Körperinneren dem Lichte zugänglich sind und deshalb durch ihre vervielfachte

[45] Graßmann, Dyckerhoff u. v. Schoenebeck: Hoppe-Seylers Z. **186**, 183 (1930); Graßmann, v. Schoenebeck u. Eibeler: Ebenda **194**, 124 (1931). — [46] Waldschmidt-Leitz, Purr u. Balls: Naturw. **18**, 644 (1930); Waldschmidt-Leitz, Schäffner u. Kocholaty: Ebenda **19**, 964 (1931); Waldschmidt-Leitz u. Purr: Hoppe-Seylers Z. **198**, 260 (1931). — [47] Hopkins u. Morgan: Biochem. J. **32**, 611 (1938); Hopkins, Morgan u. Lutwak-Mann: Ebenda **32**, 1829 (1938). — [48] Hopkins: Ebenda **19**, 787 (1925). — [49] Hammett: Protoplasma **7**, 297 (1929); **11**, 382 (1930); **13**, 331 (1931); **19**, 117 (1933); Hammett u. Smith: Ebenda **13**, 261 (1931); Hammett u. Hammett: Ebenda **15**, 59 (1932); **16**, 253 (1932); **17**, 321 (1933); **19**, 161 (1933). — [50] Eagle: J. Pharmacol. (Am.) **66**, 436 (1939).

Reaktionsgeschwindigkeit die SH-Gruppen im Körperinnern von der Giftbindung entlasten, als den Hauptfaktor bei der entgiftenden Funktion der Haut ansehen. Immerhin kann ein solcher Vorrat nicht unerschöpflich sein. Es entsteht die Frage, wie das bei der Entgiftung verbrauchte Hautsulfhydril ersetzt wird. Wenn die Sulfhydrilkörper der Haut bei der Ausübung ihrer reduzierenden Wirkung nur bis zu Disulfiden oxydiert werden und keine eingreifenderen Veränderungen erleiden, so könnten sie durch Reduktionsmittel zum Sulfhydril regeneriert werden. Körpereigene Stoffe, welche sich hierzu ohne weiteres eignen, sind aber nicht bekannt. Die Sulfhydril-Disulfidsysteme besitzen unter den körpereigenen Redoxsystemen das negativste Redoxpotential. Eine Reduktion beispielsweise durch Ascorbinsäure ist daher, jedenfalls im Reagensglas, nicht möglich.

Gibt man zu einer gesättigten Cystinlösung mit Bodenkörper Ascorbinsäure im zehnfachen molaren Überschuß hinzu, so tritt beim p_H der Gewebe auch nach tagelanger Einwirkung keine Reduktion des Cystins ein. Die Nitroprussidnatriumreaktion bleibt negativ, während sie sofort stark positiv wird, wenn man am Ende der Einwirkungszeit etwas Cyankalium zusetzt, ein Zeichen dafür, daß die Lösung unverändertes, aufspaltbares Cystin enthält*.

Dennoch hat schon Hopkins[50a] nachgewiesen, daß S—S-Glutathion durch tierisches Gewebe zu SH-Glutathion reduziert wird. Offenbar spielen bei dieser Reduktion der Disulfide die Dehydrasen des Kohlehydratstoffwechsels die Hauptrolle, was später durch Mann[50b] und Tsukano[50c] gezeigt worden ist.

Eine Wiederaufspaltung gebildeter Disulfide in Sulfhydrilkörper könnte auch durch die Bestrahlung selbst erfolgen. Diese Möglichkeit ist in unserem Institut in mehreren Arbeiten[51–56] untersucht worden. Es zeigte sich, daß das ultraviolette Licht am Eiweiß SH-Gruppen freilegt. In Parallele dazu ergab sich in den durch Wels angeregten Arbeiten von Szendrö, Lampert und Wrede[57] sowie von Holtz[58], daß bei der Bestrahlung von Cystin unter anderem Cystein entsteht. Unabhängig davon gelang es Bersin[59], Dithiolactylsäure auf photochemischem Wege in die SH-Komponenten aufzuspalten. Einige von Wels[18] erhaltene Befunde sprachen ferner dafür, daß durch UV.-Bestrahlungen auch in der isolierten Haut eine Vermehrung der SH-Gruppen stattfindet, doch war die Reproduzierbarkeit dieser Befunde bei den bisher angewandten Methoden schlecht, so daß ein sicheres Endergebnis nicht erzielt werden konnte. Albus und Feldermann[60] sprechen allerdings ebenfalls die

* Nach einer mündlichen Mitteilung von P. Wels.

[50a] Hopkins u. Dixon: J. biol. Chem. (Am.) **54**, 527 (1922). — [50b] Mann: Biochem. J. (Brit.) **26**, 785 (1932). — [50c] Tsukano: J. biochem. **15**, 491 (1932). — [51] Wels: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **171**, 480 (1933). — [52] Lampert u. Wels: Ebenda **175**, 554 (1934). — [53] Wels: Strahlenther. **58**, 1 (1937). — [54] Kather: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 645 (1937). — [55] Kather: Ebenda **185**, 323 (1937). — [56] Kämmerling: Ebenda **186**, 434 (1937). — [57] Szendrö, Lampert u. Wrede: Hoppe-Seylers Z. **222**, 16 (1933). — [58] Holtz: Klin. Wschr. **12**, 1876 (1933). — [59] Bersin: Hoppe-Seylers Z. **222**, 177 (1933). — [60] Albus u. Feldermann: Klin. Wschr. **17**, 702 (1938).

Ansicht aus, daß bei der Bestrahlung der Haut Thiolverbindungen gebildet werden, und Raabe[61] setzt die Produktion glutathionähnlicher Körper in der bestrahlten Haut sogar als bekannt voraus, doch werden von den genannten Autoren kaum überzeugende Belege dafür beigebracht, daß diese Annahme zutreffend ist. Schon vor den Veröffentlichungen unseres Instituts hat nun zwar Castellino[62] festgestellt, daß nach wiederholter UV.-Bestrahlung von Kaninchen der „Glutathiongehalt" in der Haut der Tiere ansteigt, doch kann aus solchen Versuchen am ganzen Tier nicht etwa ohne weiteres gefolgert werden, daß eine photochemische Neubildung von SH-Gruppen in der Haut stattgefunden hat. Änderungen des Glutathiongehalts in einzelnen Organen nach Bestrahlungen des Gesamtorganismus können vielmehr auf Verschiebungen des Glutathions beruhen, wie dies auch von mehreren Autoren[63] angenommen wird.

Immerhin muß man die Möglichkeit der Wiederaufspaltung von R—S—S—R-Körpern zu R—SH-Körpern in der bestrahlten Haut im Auge behalten, und es erscheint lohnend, diese Frage später mit besseren Methoden wieder in Angriff zu nehmen. Es wären dann zwei einander entgegengesetzte Lichtwirkungen zu unterscheiden: 1. Die auf Molekülanregung beruhende Beschleunigung von Reaktionen zwischen SH-Gruppen und geeigneten Reaktionsteilnehmern, welche zum Verbrauch von SH-Gruppen führt, und 2. die photochemische Neubildung von SH-Gruppen. Es wäre sehr wohl möglich, daß diese beiden Vorgänge nebeneinander verlaufen. Schließlich bleibt aber doch zu berücksichtigen, daß das Problem der Thiolregeneration sich nicht allein auf die Haut beschränkt. Auch in den inneren Organen, an welche das Licht nicht hingelangt, werden verbrauchte Thiolgruppen ersetzt werden müssen. Die angeführten Arbeiten von Hopkins[50a], Mann[50b] und Tsukano[50c] geben daher den bisher bedeutungsvollsten Aufschluß zu der angeschnittenen Frage. Wahrscheinlich werden auch fermentative Vorgänge des Eiweißstoffwechsels in Betracht zu ziehen sein, da ja bei der hydrolytischen Spaltung von Eiweiß SH-Gruppen freigelegt werden (Holtz[58]). Letzten Endes aber muß natürlich der Thiolersatz aus den schwefelhaltigen Aminosäuren des Nahrungseiweißes kommen, welche für den Aufbau einfacherer körpereigener Thiole, wie z. B. des Glutathions, vielleicht auch unmittelbar benutzt werden können.

3.

Schon in der ersten Arbeit[1], welche die Silber- und Goldverfärbungen behandelte, ist auf den Unterschied hingewiesen worden, der zwischen den im kurzfristigen Versuch erzeugten Metallniederschlägen und den durch langdauernde Gold- oder Silbermedikation hervorgerufenen Hautverfärbungen bezüglich der Lokalisation in den verschiedenen Hautschichten besteht. Ähnliche Unterschiede ergeben sich auch wieder bei

[61] Raabe: Biochem. Z. **299**, 141 (1938). — [62] Castellino: Il Dermosifiliogr. **5**, 501 (1930); Gi. ital. Derm. **74**, 727 (1933). — [63] Literatur bei Wels[51]: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **171**, 480 (1933).

den Metallen und Metalloiden, die in der vorliegenden Arbeit untersucht wurden. Über die durch Wismut, Quecksilber, Blei und Tellur hervorgerufenen Verfärbungen der menschlichen Haut ist bereits bei der Beschreibung der Einzelergebnisse berichtet worden. Die dort angeführte Literatur [8, 9, 13 15, 17, 26] zeigt in guter Übereinstimmung, daß die Niederschläge, wie es in ausgesprochenem Maße ja auch bei der Argyrie der Fall ist, vorwiegend im Corium zu finden sind, während im Versuch am durchströmten Ohr die Hauptmenge der Niederschläge wiederum wie beim Silber in der Epidermis lokalisiert ist (siehe Abb. 2 und 3).

Es ist wenig wahrscheinlich, daß hier Unterschiede grundsätzlicher Art vorliegen. Vor allem ist nicht einzusehen, daß die Epidermis, die durch ihren Sulfhydrilreichtum in so besonderem Maße zur Reduktion von Metall- und Metalloidverbindungen geeignet ist, von dieser Fähigkeit bei chronischer Zufuhr dieser Stoffe gar keinen Gebrauch machen sollte. Darauf wurde schon in der ersten Arbeit hingewiesen. Der Unterschied muß vielmehr irgendwie durch den verlangsamten Ablauf des Ablagerungsvorganges in der menschlichen Haut bedingt sein. Auch das Corium ist, wenn auch viel weniger als die Epidermis, sulfhydrilhaltig, besonders in der unmittelbaren Umgebung der zahlreichen Gefäße und in der glatten Hautmuskulatur (Nishimura [64]). Man könnte sich also vorstellen, daß bei den langsam verlaufenden Verfärbungen der menschlichen Haut schon der Sulfhydrilgehalt des Coriums ausreicht, um eine in geringer Konzentration auf dem Blutwege dorthin gelangende Metall- oder Metalloidverbindung vollständig aufzufangen, bevor sie durch Diffusion in die gefäßlose Epidermis übertreten kann. Bei der im kurzfristigen Versuch auf das Vielfache gesteigerten Konzentration erfolgt dagegen der Übertritt in die Epidermis leicht, und es kommt dort infolge des viel höheren SH-Gehalts zum Vorherrschen der Niederschläge. Dieser einfachen Vorstellung steht indessen die Tatsache entgegen, daß die Epidermis hinsichtlich der Niederschlagsdichte auch dann hinter dem Corium zurückbleibt, wenn die Zufuhr nicht auf dem Blutgefäßwege, sondern wie bei den erwähnten Fällen von Quecksilber- und Bleipigmentierungen [9–15, 17] durch äußerliche Anwendung erfolgt. Da keinesfalls anzunehmen ist, daß hierbei die Epidermis bei dem langsamen Durchtritt der Metallverbindungen an deren Reduktion von vornherein unbeteiligt bleibt, so kann ihr relatives Freibleiben von Niederschlägen nur so erklärt werden, daß ursprünglich vorhandene Ablagerungen später aus der Epidermis verschwinden. Ein Abtransport könnte auf denselben beiden Wegen vor sich gehen, auf denen auch die Abwanderung des normalerweise in der Epidermis gebildeten Melaninpigments erfolgt (Fuhs [65]): Erstens könnten bei der ständigen Erneuerung des Zellmaterials von der Keimschicht her die Niederschläge nach oben wandern und schließlich zusammen mit den äußeren Lagen der Hornschicht abgestoßen werden. Zweitens könnten

[64] Nishimura: Jap. J. Derm. a. Ur. **31**, Abstracts S. 72 (1931). — [65] Fuhs in Arzt-Zieler: Die Haut- u. Geschlechtskrankh. Bd. **1**, S. 317 (1934).

die Niederschläge aber auch in das Corium abgeführt werden. Für den Abtransport des natürlichen Pigments aus der Epidermis in das Corium spielen nach der Auffassung von Pautrier, Levy und Diss[66] die Langerhansschen Zellen der Epidermis eine wichtige Rolle, welche mit ihren Fortsätzen in das Corium hineinragen und dort mit den Coriumzellen in Verbindung treten; doch besteht über deren Herkunft und Funktion noch keine völlige Klarheit (Übersicht bei Fuhs[65]). Ein Verschwinden der Niederschläge aus der Epidermis auf den angedeuteten Wegen setzt natürlich eine gewisse Zeit voraus. Die meisten Untersuchungen an der menschlichen Haut wurden, was damit in Einklang zu bringen ist, ja auch erst lange nach der Zufuhr der Metall- und Metalloidverbindungen vorgenommen.

4.

In dieser und der vorangegangenen Arbeit[1] ist mehrmals die Auffassung vertreten worden, daß der biologische Sinn der Hautverfärbungen als Entgiftungsmaßnahme des Körpers zu deuten sei. Den durch das Licht angeregten SH-Gruppen der Haut würde nach dieser Annahme die Bestimmung zufallen, neben der Ausübung ihrer anderen Funktionen der Entgiftung dienstbar zu sein. Ein solcher teleologischer Gesichtspunkt hat natürlich nur bedingten Wert, zumal die bisher experimentell erarbeiteten Befunde an Zahl zu gering sind, um das Ganze zu übersehen. Immerhin kann er für den Anfang als Arbeitshypothese dienen, wenn man durch systematische Untersuchungen zu einem Urteil darüber gelangen will, inwieweit der Haut eine entgiftende Funktion zuzuschreiben ist, und ob hierbei ihr Reduktionsvermögen entscheidend ist.

Von vornherein aber muß dabei folgendes beachtet werden: Die photoaktivierten Sulfhydrilkörper der Haut üben eben nur ihr Reduktionsvermögen gegenüber ihren jeweiligen Reaktionspartnern aus. Ob letztere durch die Reduktion in ungiftige Stoffe verwandelt werden, oder ob sie ihre ursprüngliche Wirksamkeit unverändert beibehalten, oder ob sie unter Umständen durch den Reduktionsvorgang sogar erst giftig werden, wird von dem Charakter der vorliegenden Substanz abhängen und muß stets im einzelnen geprüft werden. Einige Digitalisglykoside, wie das Digitalin und das Strophanthin, erleiden nach Windaus, Bohne und Schwieger[67] und nach Jacobs und Hoffmann[68] bei der Reduktion eine starke Einbuße ihrer Wirksamkeit. Ihre hydrierten Produkte, das Dihydrodigitalin und das Dihydroouabain, zeigen am Froschherzen keine Giftigkeit mehr. Bei den Alkaloiden Morphin und Codein ist dagegen eine Hydrierung ganz ähnlicher Art, was die Giftwirkung anbetrifft, praktisch wirkungslos; denn Dihydromorphin (Paramorfan) und Dihydrocodein (Paracodin) verhalten sich etwa ebenso giftig wie die Ausgangsprodukte. Deswegen bietet beim Morphin ein Versuch zur Entgiftung

[66] Pautrier, Levy u. Diss: Arch. Derm. (Am.) 17, 1 (1928). — [67] Windaus, Bohne u. Schwieger: Ber. dtsch. chem. Ges. 57, 1388 (1924). — [68] Jacobs u. Hoffmann: J. biol. Chem. (Am.) 67, 333 (1926).

durch Oxydation mehr Aussicht auf Erfolg. Noch immer spielt das Kaliumpermanganat bei der Behandlung der Morphinvergiftung eine gewisse Rolle, wenn es sich darum handelt, im Magen befindliches Morphin unschädlich zu machen. Als Beispiel eines Wirkstoffes, bei dem durch Reduktion keine Abschwächung, sondern eine Zunahme der Wirksamkeit erfolgt, kann das Eisen angeführt werden; denn die Ferrosalze sind wirksamer und auch giftiger als die Ferrisalze (Heubner[69], Starkenstein[70]). Stark giftig wird durch Reduktion das Nitroglycerin, indem es im Organismus in Nitrit übergeht. Auch andere verhältnismäßig ungiftige Nitrate, wie Salpeter und Wismutsubnitrat, können unter besonderen Bedingungen im Körper reduziert werden und dann infolge der Nitritbildung zu schweren Vergiftungen Anlaß geben. (Übersicht bei Cushny[71] und Forst[72].)

Bei den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Metall- und Metalloidverbindungen lagen die Verhältnisse für eine Entgiftung in der bestrahlten Haut durch Reduktion günstig. Eine Beantwortung der Frage, ob noch andere anorganische oder organische Gifte auf dem gleichen Wege entgiftet werden können, ist nur durch weitere Untersuchungen möglich. Vielleicht ist es aber überhaupt nicht zweckmäßig, die Frage nach dem Entgiftungswert des Hautsulfhydrils allein auf den Reduktionsvorgang abzustellen, da ja verschiedene Beispiele, welche in dieser Arbeit angeführt worden sind, schon deutlich zeigen, daß auch Koppelungen und Komplexbildungen giftiger Stoffe mit SH-Körpern möglich sind und zur Entgiftung führen. Ob hierbei allerdings das Licht die gleiche Rolle des Reaktionsbeschleunigers spielt wie bei den Reduktionsvorgängen, ist noch fraglich.

Zusammenfassung.

1. In der mit ultraviolettem Licht bestrahlten Schweine- und Kaninchenhaut werden Wismut, Quecksilber, Blei, Antimon, Arsen, Selen und Tellur aus ihren Verbindungen niedergeschlagen und führen zur Verfärbung der Haut.

2. Den Verfärbungen liegen wahrscheinlich Niederschläge in elementarer Form zugrunde. Diese lagern sich hauptsächlich in der Epidermis, weniger in den tieferen Hautschichten ab.

3. Die Abscheidung der Metalle und Metalloide aus ihren Verbindungen vollzieht sich im wesentlichen unter der Reduktionswirkung der Sulfhydrilkörper. Werden diese vorher mit Monojodacetat vergiftet, so werden die Abscheidungen stark vermindert oder bleiben ganz aus.

4. Die Metall- und Metalloidniederschläge werden als Endprodukte eines Entgiftungsvorganges aufgefaßt. Die Bedeutung der Haut als Entgiftungsorgan wird besprochen.

---

[69] Heubner: Klin. Wschr. **5**, 588 (1926); Z. klin. Med. **100**, 675 (1924); Ther. M. **26**, 44 (1912). — [70] Starkenstein: Klin. Wschr. **7**, 217 u. 267 (1928). — [71] Cushny: In Heffters Handb. exper. Pharmak. Bd. I, S. 854 (1923). — [72] Forst: Ebenda Bd. III, 4, S. 2374 (1935).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg. (Direktor: Prof. Dr. med. O. Geßner.)

Über die Potenzierung der Strychninwirkung durch Chinin.

Von

Otto Geßner.

(Eingegangen am 17. Mai 1943.)

Eine durch falsche Ausführung einer ärztlichen Verordnung durch den Apotheker verursachte und von mir an anderer Stelle[1] beschriebene medizinale Strychninvergiftung am Menschen veranlaßte mich, den Strychningehalt der vom Apotheker abgegebenen Pillen (pro Pille waren verordnet: Strychnin. nitric. 0,66 mg; Chininum hydrobrom. 50 mg; Luminal Natr. 33 mg) chemisch und pharmakologisch zu bestimmen. Hierbei ergab sich, gemessen an der krampferzeugenden Wirkung auf Salamanderlarven und an der D. l. m. bei weißen Mäusen (subcutan) pharmakologisch ein höherer Strychninwert als bei der chemischen Analyse. Da auch in Kontrollversuchen mit einer kombinierten Strychnin-Chinin-Lösung (entsprechend der Sollkonzentration von Strychnin und Chinin in einem wässerigen Auszug der vom Apotheker abgegebenen Pillen, von denen bereits eine einzige stundenlang anhaltende typische Krampfzustände hervorgerufen hatte) eine stärkere Krampfwirkung an Salamanderlarven bzw. eine niedrigere D. l. m. von Strychnin an der Maus als mit entsprechenden reinen Strychninlösungen gefunden wurde, vermutete ich eine Potenzierung der Strychninwirkung durch Chinin; dies um so eher, als aus der älteren Literatur bereits bekannt war, daß Chinin bei Fröschen Steigerung der Reflexerregbarkeit (Heubach[2]) und bei Warmblütern, z. B. bei Katzen, Kaninchen und Meerschweinchen Erhöhung der Reflexerregbarkeit und Krämpfe (Wittmaack[3]) erzeugen kann.

Da ein solcher Synergismus, selbst wenn er bei der nicht selten geübten kombinierten Anwendung von Strychnin und Chinin keine praktische klinische Bedeutung haben sollte, auf jeden Fall Störungen der quantitativ-pharmakologischen Strychninanalyse in chininhaltigen Arzneigemischen zur Folge haben müßte, schien es mir durchaus angebracht, diese Frage an verschiedenen Tierarten in größeren Versuchsreihen zu untersuchen.

Diese Untersuchungen wurden ausgeführt 1. an Salamanderlarven (Literatur über Methode siehe bei Geßner[4]), die in verschieden kom-

[1] Geßner, O.: Sammlung von Vergiftungsfällen, 1943. — [2] Heubach, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **5**, 1 (1876). — [3] Wittmaack, K.: Pflügers Arch. **95**, 209 (1903). — [4] Geßner, O.: Z. exper. Med. **110**, 601 (1942).

binierte Chinin-Strychninlösungen eingesetzt und bis zum Krampfeintritt beobachtet wurden; 2. an Fröschen, denen Chinin (Hydrochlorid) und anschließend Strychnin (Nitrat) in verschiedene Lymphsäcke injiziert wurde, worauf auch hier der Krampfeintritt bestimmt wurde; und 3. an weißen Mäusen, bei denen Chinin und anschließend Strychnin subcutan eingespritzt und die D. l. m. (Tod stets im typischen Streckkrampf) festgestellt wurde.

Versuchsergebnisse*.

1. Versuche an Feuersalamanderlarven.

(160 Tiere.)

Aus nebenstehender Tabelle 1 ergibt sich einmal, daß Chinin für sich allein in allen untersuchten Konzentrationen (1 : 500 bis 1 : 50000) an Feuersalamanderlarven keine Krämpfe, und Erregbarkeitssteigerung nur in den höheren Konzentrationen (1 : 500 bis etwa 1 : 5000) sichtbar hervorrief, und daß das Chinin von 1 : 500 bis 1 : 10000 zu einer mit der Abnahme der Chininkonzentration geringer werdenden, aber bis 1 : 10000 noch sehr deutlichen Potenzierung der Strychninwirkung führte. Diese Wirkung trat nicht nur bei höheren Strychninkonzentrationen (1 : 25000, 1 : 50000), sondern auch noch bei der Strychnin-Krampfschwellenkonzentration (1 : 250000) und selbst bei der unterschwelligen Strychninkonzentration 1 : 500000 klar in Erscheinung.

2. Versuche an Fröschen (Rana temporaria, nur ♂).

(40 Tiere im Gewicht von 30—40 g.)

Zuerst Einspritzung des Chinins (stets 1 %) in einen Schenkellymphsack; 5 Minuten später Injektion des Strychnins (10^{-5}, 10^{-4}) in den Bauchlymphsack, und zwar, um jeden Verlust von Injektionsflüssigkeit zu vermeiden, nur vom Mundboden aus mit Lieberg-Spritze.

Aus der Tabelle 2 geht hervor, daß die Strychninkrampfwirkung in Krampfgrenzdosen von 0,5 und 0,4 γ/1 g durch Chinin bereits in Dosen unter 100 γ/1 g, die für sich keine sichtbare Wirkung, insbesondere keine durch einfache Reflexprüfung feststellbare Steigerung der Reflexerregbarkeit erzeugten, erheblich, auch hinsichtlich der Zeit des Krampfeintritts potenziert wurde. Bei Strychnin 0,4 γ/1 g und bei der hinsichtlich Krampfwirkung unterschwelligen Strychnindosis von 0,3 γ/1 g war die Potenzierung durch Chinin 100 γ/1 g deutlich stärker als durch Chinin 50 γ/1 g, die Verhältnisse lagen also beim Frosch ähnlich wie bei den Amphibienlarven. Selbst bei Kombination der an sich völlig krampfunwirksamen Strychnindosis von 0,25 γ/1 g trat durch Chinin 50 γ/1 g noch deutlich Potenzierung ein.

* Aus Gründen der Raumersparnis wird auf Wiedergabe von Einzelprotokollen, die im Institut Halle eingesehen werden können, verzichtet und nur eine tabellarische Zusammenstellung der wesentlichsten Ergebnisse gebracht.

Tabelle 1. Chinin und Strychnin an Feuersalamanderlarven.
(Je 1 Larve in je 20 ccm Lösung, Temperatur 19—20° C) (im ganzen 160 Larven.)

1 Chinin allein (Kontrollen zu 2)	2 Chinin + Strychnin (Hauptversuche)	3 Strychnin allein (Kontrollen zu 2)
1:500 K 0, † 85′	1: 500 + 1: 50 000 K 15′	1: 50 000 K 29′
1:1000 K 0, † 105′	1: 1 000 + 1: 75 000 K 19′	1: 75 000 K 35′
1:2500 K 0, † > 180′	1: 1 333 + 1:100 000 K 29′	1:100 000 K 57′
	1: 3 333 + 1:250 000 K 43′	1:250 000 K 88′
1:5000 K 0, † > 10 Std.	1: 5 000 + 1: 25 000 K 15′	1: 25 000 K 19′
	1: 5 000 + 1:100 000 K 25½′	1:100 000 K 43½
	1: 5 000 + 1:250 000 K 42′	1:250 000 K 4 Std. 33′
	1: 5 000 + 1:500 000 K 3 Std. 55′	1:500 000 K 0 (20 Std.)
1:7500 K 0, † > 12 Std.	1: 6 666 + 1:500 000 K 83′	1:500 000 K 0 (20 Std.)
1:10 000 K 0 (überlebt in 24 Std.)	1:10 000 + 1: 50 000 K 14′	1: 50 000 K 26′
	1:10 000 + 1: 80 000 K 18′	1: 80 000 K 32′
	1:10 000 + 1:100 000 K 36′	1:100 000 K 40′
	1:10 000 + 1:250 000 K 129′	1:250 000 K 178′
	1:10 000 + 1:500 000 K 217′	1:500 000 K 0 (20 Std.)
1:20 000 K 0 (überlebt in 24 Std.)	1:20 000 + 1:100 000 K 58′	1:100 000 K 62′
1:50 000 K 0 „ „ 24 „	1:50 000 + 1:100 000 K 59′	1:100 000 K 58′

Zeichenerklärung: K = typische spontane Strychninkrämpfe.
K 0 = keine Krämpfe.
† = Tier tot.
Zeit in Min. (′) vom Beginn des Versuchs bis K, bzw. †.

Tabelle 2. Chinin und Strychnin bei Fröschen (Rana temporaria) (40 männliche Frösche, 30—40 g).

1 Chinin allein (1 %) Kontrolle zu 2	2 Chinin (1 %) und Strychnin (10^{-4} bzw. 10^{-5}) Hauptversuche	3 Strychnin allein (10^{-4}, 10^{-5}) Kontrolle zu 2
75 γ/1 g keine sichtbare Wirkung, besonders keine Steigerung der Reflexerregbarkeit	1. 5 Tiere, 75 γ/1 g (1 %) und 0,5 γ/1 g (10^{-4}). Alle 5 Tiere K + (nach 26′, 38′, 29′, 34′, 40′)	1. 5 Tiere 0,5 γ/1 g (10^{-4}). 2 Tiere K + (59′, 60′), 1 Tier R ++, 2 Tiere R +.
	2. 5 Tiere, 80 γ/1 g (1 %) und 0,4 γ/1 g (10^{-4}). alle 5 Tiere K + (nach 25′, 39′, 40′, 49′, 54′)	2. 5 Tiere 0,4 γ/1 g (10^{-4}). 1 Tier K + (127′), 1 Tier R +++ (108′), 3 Tiere R 0
80 γ/1 g keine sichtbare Wirkung, besonders keine Steigerung der Reflexerregbarkeit	3. 7 Tiere, 50 γ/1 g (1 %) und 0,4 γ/1 g (10^{-5}). 6 Tiere K + (24′, 53′, 56′, 57′, 66′, 84′, 107′), 1 Tier R +++ (59′)	3. 7 Tiere 0,4 γ/1 g (10^{-5}). Kein Tier K +, 1 Tier R +++ (57′), 6 Tiere R + (innerhalb $2^1/_2$ Std.)
100 γ/1 g keine sichtbare Wirkung, besonders keine Steigerung der Reflexerregbarkeit	4. 5 Tiere, 100 γ/1 g (1 %) und 0,3 γ/1 g (10^{-4}). alle 5 Tiere K + (nach 22′, 24′, 25′, 36′, 40′)	4. 5 Tiere 0,3 γ/1 g (10^{-4}). Kein Tier K +, 4 Tiere R + (39′, 40′, 48′, > 40′), 1 Tier R 0.
	5. 5 Tiere, 50 γ/1 g (1 %) und 0,3 γ/1 g (10^{-4}). 4 Tiere K + (nach 27′, 48′, 57′, 67′), 1 Tier R +++ (nach 65′)	5. 5 Tiere 0,3 γ/1 g (10^{-4}). 1 Tier K + (43′), 2 Tiere R + (55′, 64′), 2 Tiere R 0.
	6. 5 Tiere, 50 γ/1 g (1 %) und 0,25 γ/1 g (10^{-5}). 2 Tiere K + (nach 65′, 100′), 2 Tiere R +++ (nach 35′, 90′), 1 Tier R ++ (nach 90′)	6. 5 Tiere 0,25 γ/1 g (10^{-5}). Alle 5 Tiere R 0.

Zeichenerklärung: K + = typische spontane Strychninkrämpfe.
R +++ = Krampfbereitschaft.
R ++ = starke Reflexerregbarkeitssteigerung.
R + = mäßige Reflexerregbarkeitssteigerung.
R 0 = keine Reflexerregbarkeitssteigerung.

3. Versuche an weißen Mäusen.

(55 männliche Tiere von 15—18 g.)

Zuerst Injektion des Chinins (stets 1 %), 1 Minute später Einspritzung des Strychnins (stets 10^{-4}), alle Injektionen subcutan, an den Flanken.

Tabelle 3. Chinin und Strychnin bei weißen Mäusen.
(55 Tiere von 15—18 g.)

1	2	3
Chinin allein (1 %) Kontrollen zu 2	Chinin (1 %) und Strychnin (10^{-4}) Hauptversuche	Strychnin allein (10^{-4}) Kontrollen zu 2
50—300 γ/1 g ohne sichtbare Wirkung	100 γ/1 g und 0,5 γ/1 g 0	0,5 γ/1 g 0
	200 γ/1 g „ 0,5 γ 1 g 0	0,5 γ/1 g 0
	300 γ/1 g „ 0,5 γ/1 g 0	0,5 γ/1 g 0
	200 γ 1 g „ 0,75 γ/1 g † 17′	0,75 γ/1 g 0
350 γ/1 g	50 γ/1 γ „ 1,0 γ/1 g † 9′	1,0 γ/1 g 0
	50 γ 1 g „ 1,0 γ/1 g † 9′	1,0 γ/1 g 0
† (> 2 Std.)	100 γ 1 g „ 1,0 γ/1 g † 11′	1,0 γ/1 g 0
	100 γ/1 g „ 1,0 γ/1 g † 23′	1,1 γ/1 g 0
420 γ/1 g † (Lit. Wert *)	200 γ/1 g „ 1,0 γ/1 g † 5 Std.	1,25 γ/1 g † 18′
		1,5 γ/1 g † 16′
		1,5 γ/1 g † 16′

*) Bachem, zit.: Heffters Handb. exper. Pharmak. Bd. II, 1, S. 42.

Zeichenerklärung: 0 = keine Krämpfe.
† = Tod in typischem Streckkrampf.
Zeit in Minuten von der Injektion an gerechnet.

Aus der Tabelle 3 ergibt sich auch für die Maus eine deutliche Potenzierung der Strychninwirkung durch Chinin, hier am besten erkennbar an der Herabsetzung der D. l. m. Der Tod trat bei allen Strychnin- bzw. Chinin-Strychninmäusen in typischem Streckkrampf ein, während die nur mit Chinin gespritzten Mäuse auch nach tödlichen Dosen niemals Krämpfe zeigten, vielmehr im Lähmungsstadium starben. Im einzelnen ließ sich $^2/_5$ der D. l. m. von Strychnin selbst durch Chinin 300 γ/1 g nicht über die Schwelle heben, dagegen wurden $^3/_5$ der D. l. m. von Strychnin durch Chinin 200 γ/1 g zur tödlichen Dosis potenziert. Bei $^4/_5$ der D. l. m. von Strychnin war (gemessen an der Zeit von der Einspritzung bis zum Tode) Chinin 50 γ/1 g stärker als 100 γ/1 g und dieses wieder stärker als 200 γ/1 g potenzierend wirksam, so daß man den Eindruck gewinnt, daß das Chinin in höherer Dosis an der Maus infolge seiner lähmenden Wirkung die Strychninkrampfwirkung antagonistisch beeinflußt. Wittmaack[5] gab für den Hund übrigens nur lähmende Wirkung an und nach Eulenburg[6] wird die Strychninwirkung durch Chinin herabgesetzt oder gar unterdrückt. Zweifellos ist die verschiedene Wirkung abhängig von der Chinindosis, wie dies ja auch eindeutig aus meinen Mäuseversuchen hervorgeht.

[5] Wittmaack, K.: a. a. O. — [6] Eulenburg: Virchows Arch. 2, 441 (1865).

Beim Warmblüter (Maus) liegen somit die Verhältnisse umgekehrt wie bei den Kaltblütern (Salamanderlarven, Fröschen), bei denen die Potenzierung mit der Chininkonzentration bzw. -dosis anstieg. Es ist auch durchaus denkbar und angesichts der Zellgiftnatur des Chinins sogar wahrscheinlich, daß selbst die offensichtliche Potenzierung der Strychninwirkung durch Chinin auf einer lähmenden Chininwirkung beruht, etwa derart, daß Chinin in bestimmten niedrigeren Dosen nur Hemmungs- bzw. Sperreinrichtungen des Zentralnervensystems lähmt und dadurch die Strychninkrampfwirkung fördert, während durch höhere Chinindosen auch solche Elemente des Zentralnervensystems gelähmt werden, deren Ausfall die Strychninkrampfwirkung herabsetzt oder unmöglich macht.

Da die Potenzierung der Strychninwirkung durch Chinin erst durch Chinindosen zustandekommt, die auf den Menschen umgerechnet mit üblichen Chininmengen (z. B. würde die in Mischarzneien mit Strychnin übliche Chininmenge von absolut 50 mg den Wert 0,7 γ/1 g Mensch statt der beim Tier wirksamen Chinindosen von 50—200 γ/1 g ergeben) niemals erreicht werden können, wird diese Potenzierung praktisch-klinisch wohl nicht in Betracht kommen. Dagegen hat man die Potenzierung der Strychninwirkung durch Chinin bei der quantitativ-pharmakologischen Strychninbestimmung solcher Arzneigemische, die neben Strychnin noch Chinin enthalten, unter allen Umständen zu beachten und in Rechnung zu stellen.

Zusammenfassung.

An Amphibienlarven (Salamanderlarven), Fröschen (Temporarien) und weißen Mäusen wurde eine mehr oder weniger erhebliche Potenzierung der Strychninwirkung (Krampfeintritt bei Salamanderlarven und Fröschen, D. l. m. bei Mäusen) durch Chinin ermittelt. Während bei den Kaltblütern die potenzierende Wirkung des Chinins in einem bestimmten Bereich mit der Konzentration bzw. der Dosis zunahm, zeigte sich beim Warmblüter (Maus) ein umgekehrtes Verhalten.

Aus dem Physiologischen Institut der Universität München.

Über die Wirkung des Bufotalins auf den Kreislauf des Gesunden.

Von

H. Busse* und **A. Struppler.**

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 26. Mai 1943.)

In der alten Volksmedizin waren die geheimnisvoll erscheinenden Krötengifte seit langem bekannt. Der Hautschleim der großen amerikanischen Kröte lieferte den Eingeborenen des Amazonasgebietes eines ihrer vielen Pfeilgifte, in China wurde das „Ch'an Su", der eingetrocknete Schleim der chinesischen Kröte, als Medikament verwandt und wird auch heute noch gebraucht. Auch in Europa wußte man schon früh von der Heilwirkung des Krötengiftes, und zwar schon bevor man die medizinische Bedeutung der Digitalis geahnt hatte. In ähnlicher Weise wie bei Digitalis sah man ursprünglich bei den Krötenstoffen den Hauptnutzen in ihrer harntreibenden Wirkung, vor allem bei Wassersucht. Erst später gewann man über ihre Herzwirksamkeit Klarheit.

Die Erforschung der chemischen Konstitution ergab eine überraschende Übereinstimmung dieser beiden Naturstoffe, vor allem im Hinblick auf die Strukturverwandtschaft ihrer spezifisch herzwirksamen Komponenten, der Genine. Krötengifte und pflanzliche Herzglykoside bauen sich ebenso wie die Sterine, die Gallensäuren und Sexualhormone auf dem gemeinsamen Cholangrundgerüst auf. Diese Erkenntnis ist vor allem durch die richtunggebenden Arbeiten Wielands gewonnen worden, dem zusammen mit Weil (1) die Isolierung des kristallisierten Bufotalins aus den Hautdrüsen der einheimischen Erdkröte gelang.

Entsprechend der chemischen Verwandtschaft zwischen den pflanzlichen und tierischen herzwirksamen Stoffen war auch eine ähnliche pharmakologische Wirksamkeit zu erwarten. Untersuchungen am isolierten Herzen des Kalt- und Warmblüters [Literaturübersicht siehe (2)] bestätigten die Vermutung. Das allgemeine Vergiftungsbild überdeckte sich völlig mit dem der Digitalisglykoside.

Obwohl somit eine gute Kenntnis über den chemischen Aufbau und die digitalisähnliche Wirkungsweise der Krötenstoffe vorlag, haben sich diese Herzmittel jedoch bisher keinen Eingang in die Klinik verschaffen können. „Wenn trotzdem wenig Aussicht besteht", schreibt Gessner (3),

* Oberstabsarzt in einer Heeres-San.-Staffel, kommandiert zum Physiologischen Institut.

„das Krötengift wie Digitalis in den Heilschatz einzuführen, so liegt das 1. an der Schwierigkeit der Giftbeschaffung und Herstellung der Präparate, 2. daran, daß wir mit Digitalis u. a. so gut versehen und klinisch so vertraut sind, daß es schwer wird, dem an sich bestens begründeten Krötengift einen Platz unter den bisherigen Herzmitteln mit der Digitalisgruppe zu erobern."

Die erste therapeutische Anwendung der isolierten herzwirksamen Krötengifte wurde vor etwa 10 Jahren in Amerika durch Chen und Chen (4) mitgeteilt. Leider wurden aber diese Versuche weder systematisch durchgeführt noch exakt protokolliert. Die Verfasser begnügten sich mit der Wiedergabe allgemeiner Eindrücke, die ihnen 3 Krankenhausärzte von der Anwendung der Krötenstoffe bei Herzkranken schilderten. Abgesehen von der dadurch möglichen Subjektivität der Urteile, kann man auch aus diesen Versuchen deshalb keine allgemein gültigen Schlüsse ziehen, da unverständlich hohe Dosen injiziert wurden, die zu schweren Vergiftungserscheinungen (Brechen, Kurzatmigkeit, Bewußtlosigkeit) führten. — In seiner Dissertationsarbeit teilt der eine von uns (2) eine Reihe von Behandlungsversuchen mit, die er mit therapeutischen Gaben von Krötengift an Herzkranken ausgeführt hat. Es ergab sich eine auffallende Ähnlichkeit der Wirkung der Krötengifte mit der der pflanzlichen herzwirksamen Stoffe.

In einer früheren Mitteilung (5) hatten wir uns mit der Wirkung des Strophanthins auf den Blutdruck des gesunden Menschen beschäftigt. In Parallele hierzu haben wir auf Veranlassung von Herrn Prof. R. Wagner das Krötengift einer ähnlichen Untersuchung unterzogen. Es kam uns darauf an, die Krötengiftwirkung zunächst am Kreislauf des Gesunden zu analysieren und hiermit die Voraussetzung für die Beurteilung über die Wirkung am Kranken zu schaffen. Es lag ferner in unserer Absicht, Krötengift- und Strophanthinwirkung einander gegenüberzustellen, um in Erfahrung zu bringen, ob diese beiden Naturstoffe sich trotz ihrer nahen chemischen Verwandtschaft nicht doch unterschiedlich verhielten und worin die Verschiedenartigkeit bestünde.

Methodik.

Für die intravenösen Injektionen benutzten wir das Bufotalin in therapeutischen Gaben von 0,25 und 0,5 mg. In einem Fall kam auch 0,25 mg Bufotoxin zur Anwendung. Das Material wurde uns vom Chemischen Staatslaboratorium München freundlicherweise zur Verfügung gestellt. Als Strophanthinpräparat wählten wir Kombetin (Boehringer) zu 0,5 mg, das wir schon in einer früheren Arbeit (5) hinsichtlich der Wirkung auf den Blutdruck benutzten und an dem wir jetzt ergänzend Schlagvolumenbestimmungen ausführten*. Alle Präparate wurden ohne Traubenzucker

* Grundsätzlich sei für alle Vergleiche zwischen Bufotalin- und Strophanthinwirkung in dieser Arbeit vermerkt, daß die Frage einer Äquivalenz in den angewandten Dosen offen bleiben muß.

injiziert. Die beiden gesunden männlichen Versuchspersonen standen im Alter von 24 und 32 Jahren. Die Injektionen wurden bei völliger Körperruhe vorgenommen, und zwar im Sitzen für die Blutdruckregistrierung und im Liegen für die Schlagvolumenbestimmung.

Zur Untersuchung standen uns 2 Versuchsmethoden zur Verfügung:

1. Die fortlaufende Blutdruckregistrierung nach R. Wagner (6). Dieses Verfahren gestattet es, die schon während der Injektion und der darauffolgenden Minuten einsetzenden Veränderungen des Blutdrucks zu verfolgen. Die Blutdruckwerte werden nicht nur fortlaufend, sondern auch in der richtigen Amplitudengröße verzeichnet. Die Manschette des Apparats wird um das rechte Handgelenk herumgelegt. Die in der Arteria radialis auftretenden Druckänderungen werden augenblicklich durch Luftdruck kompensiert. Auf diese Weise ist die Gefäßwandspannung an der Meßstelle völlig ausgeschaltet, und die Arterie, registriertechnisch gesehen, physikalisch eröffnet. Über die Einzelheiten im Mechanismus des neuen Blutdruckmeßgeräts verweisen wir auf die Monographie von R. Wagner (6). Vor Beginn des Versuchs werden die Ausgangswerte des Blutdrucks nach Riva-Rocci auskultatorisch gemessen und nach diesen die Amplitude der fortlaufenden Blutdruckschreibung in der richtigen Größe eingestellt, entsprechend den auf der Rußtrommel durch einen Kamm nach Eichversuchen geschriebenen Linien. — Die Injektion erfolgt langsam: Dauer für die Einspritzungen zu 0,25 mg 20 Sek., für die zu 0,5 mg 40 Sek. Vor allem muß die Versuchsperson darauf achten, daß der Arm, an dem die Manschette angelegt ist, völlig ruhig gehalten wird, auch in dem Moment, wenn am anderen Arm die Kanüle eingestochen wird. Sollten sich bei der Versuchsperson stärkere Schmerzreaktionen auf den Einstich in der Blutdruckkurve abzeichnen, dann läßt man zunächst die Kanüle in der Vene liegen und wartet mit der Injektion, bis der Blutdruck wieder auf seinen Ruhewert eingespielt ist.

Mit dem Wagnerschen Verfahren der Blutdruckmessung kann man den Blutdruck des Menschen von Puls zu Puls verfolgen und auch kleine, plötzlich auftretende Änderungen des Blutdrucks feststellen, die der sonst gebräuchlichen Methode nach Riva-Rocci natürlicherweise entgangen sein würden.

2. Um die Kreislaufwirkung des Bufotalins einer noch spezielleren Analyse zu unterwerfen und vor allem um die unterschiedliche Wirkung des Bufotalins gegenüber dem Strophanthin exakt abzugrenzen, haben wir außerdem physikalische Schlagvolumenbestimmungen ausgeführt. Aus der Blutdruckkurve allein ohne Kenntnis des elastischen Verhaltens der Gefäßwand ist es nur in bestimmten Fällen mit besonderem Vorbehalt angängig, aus den Änderungen der Amplitudengröße auf richtungsmäßig gleichsinnige der Schlagvolumengröße zu schließen. Ganz besonders mußte uns auch daran liegen, zahlenmäßige Angaben über den peripheren Widerstand zu erhalten, um aus ihnen wichtige Schlüsse auf die Wirkung der Pharmaka bezüglich der kleinen Gefäße ableiten zu können.

Die Schlagvolumenbestimmungen führten wir nach der Methode von Broemser und Ranke (7) aus, da sie, wie Wetterer und Deppe (8) in Tierversuchen gezeigt haben, auch in extremen Zuständen des Kreislaufs den auf blutigem Wege gewonnenen Werten der Schlagvolumina am nächsten kommt. Die Pulskapseln wurden bei der völlig ausgeruhten Versuchsperson an der A. carotis communis (zentrale A.) und der A. femoralis (periphere A.) angelegt. Die Sphygmogramme wurden im allgemeinen in folgenden Zeitabständen aufgenommen: Nach der Ruheaufnahme sofort eine Aufnahme im Anschluß an die Injektion, dann einige Aufnahmen in minutlichen Abständen und später 15 bzw. 20, 25 oder 35 Min. nach der Injektion. Hierbei wurden die Blutdruckwerte auskultatorisch nach Riva-Rocci festgestellt.

Die Schlagvolumenformel von Broemser und Ranke,

$$V_s = \frac{(P_s - P_d) \cdot Q \cdot S \cdot T}{\varrho \cdot c \cdot D} \cdot z \quad \ldots \ldots \ldots \ldots$$

wurde mit dem Faktor $z = 0{,}5$ benutzt, wobei Q = Aortenquerschnitt der Suterschen Alterstabelle zu entnehmen war, $\varrho = 1{,}06$ die Dichte des Blutes, c = die Pulswellengeschwindigkeit, $P_s - P_d$ die Blutdruckamplitude und T, S, D die Dauer des Pulses, der Systole und Diastole bedeutete. Der Elastizitätsmodul E' wurde nach den oben angeführten Autoren aus $(\varrho \cdot c)/(Q \cdot S)$ berechnet. Wenn wir den peripheren Widerstand definieren als das Verhältnis des mittleren Druckes (P_m) zur mittleren Stromstärke (i_m), erhalten wir $w = (P_m \cdot T)$ pro (V_s) und setzen dementsprechend anstatt des P_d in der ursprünglichen Fassung der Broemser-Rankeschen Widerstandsformel dafür P_m ein. Unserer Berechnung lag daher folgende Widerstandsformel zugrunde:

$$w = \frac{2 \cdot E' \cdot D \cdot P_m}{P_s - P_d}.$$

(Multiplikation mit 2 erfolgte, da Broemser und Ranke den Faktor z auf E' beziehen.)

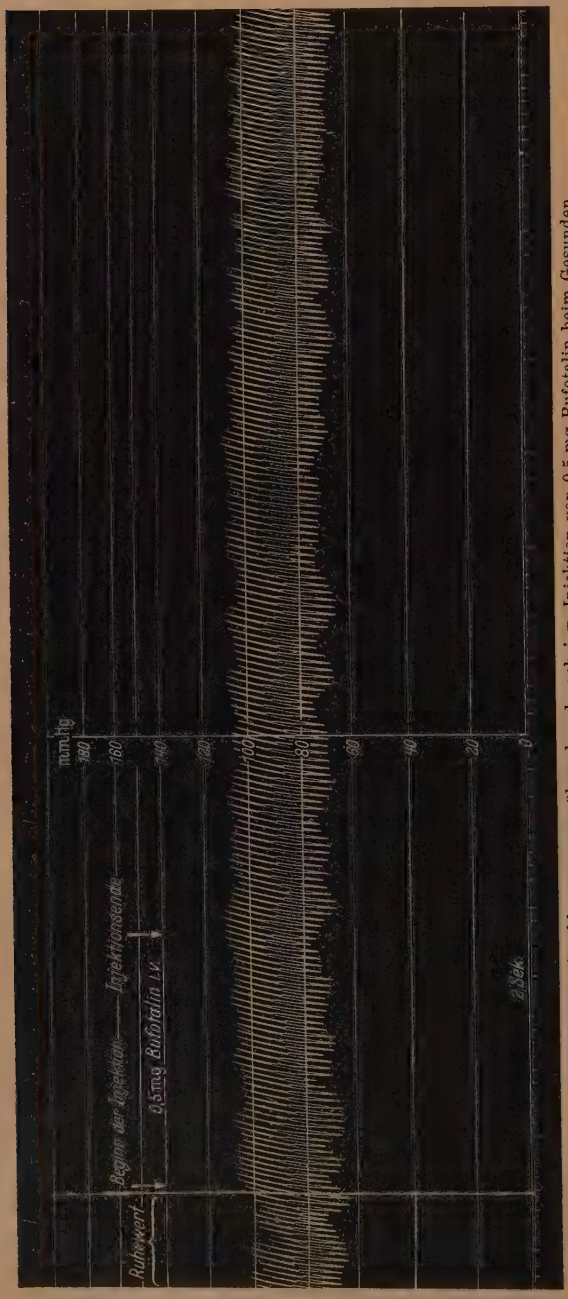


Abb. 1. Blutdruckkurve vor, während und nach i. v.-Injektion von 0,5 mg Bufotalin beim Gesunden

Darstellung der Ergebnisse.

Die Abb. 1 ist als Beispiel zur Wiedergabe einer mit dem Wagnerschen Apparat geschriebenen Blutdruckkurve bei intravenöser Injektion von 0,5 mg Bufotalin gewählt. Wir haben den Ruhewert, der den zu Anfang des Versuchs gemessenen Riva-Rocci-Werten entspricht, gesondert darstellen und somit im Bilde auf den eigentlichen Übergang

von diesem auf die Injektionskurve verzichten müssen, da unmittelbar vor der Injektion jedesmal im Blutdruckbande eine Reihe von sehr starken Traube-Hering-Wellen auftraten, die in großen Schwankungen um den Ruhewert herum spielten und diesen nicht ohne weiteres erkennen ließen. Der Raumersparnis wegen haben wir daher das Kurvenstück unmittelbar vor der Injektion fortgelassen. Auf die Bedeutung der Traube-Hering-Wellen im Zusammenhang mit der Erwartung eines Eingriffs, hier des Kanülen-einstichs, und den dabei auftretenden Unlustgefühlen hat R. Wagner in seiner Monographie (6) mehrfach hingewiesen. An der gesamten Blut-druckkurve geben sich an den Schwankungen der diastolischen Werte weiterhin deutliche Traube-Hering-Wellen zu erkennen, während sich

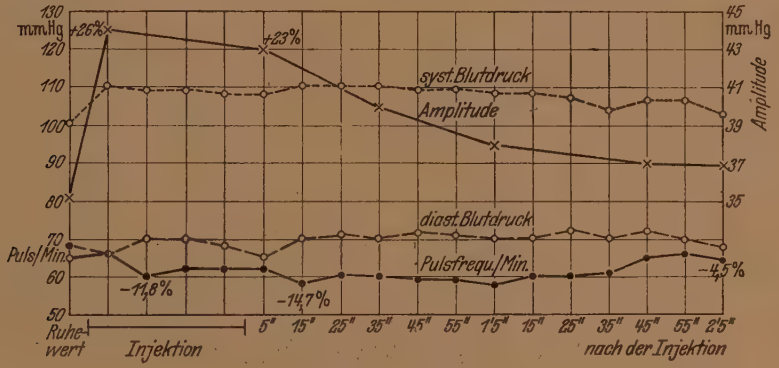


Abb. 2 (Erklärung siehe Text).

vorwiegend in den systolischen Werten die respiratorischen Blutdruck-schwankungen ausprägen, die ebenfalls bereits eine eingehende Bearbeitung von uns erfahren haben (9).

Schon während der Injektion kommt es zu einem Ansteigen des systolischen Druckes um etwa 10 mm Hg. Gegen Ende der Abbildung, etwa 2 Min. nach Injektionsende, nähern sich die systolischen Drucke im allmählichen Absinken wieder ungefähr den Ruhewerten. Am diastolischen Druck findet nur eine geringere Erhöhung statt, etwa um 5 mm Hg, die ebenfalls während der Injektion beginnt und gegen Ende der Kurve wieder abgeklungen ist. Demzufolge ergibt sich eine Erhöhung der Amplitude, vom Ruhewert (= 35 mm Hg) an auf maximal 44 = etwa 26 %. Die Pulsfrequenz erfährt in diesem Beispiel eine deutliche Abnahme maximal um 14,7 % etwa 25 Sek. nach der Injektion. Auch am Schluß der hier gezeigten Kurve besteht noch eine leichte Bradykardie. Der dikrote Nachschlag, der sich am abfallenden Schenkel der pulsatorischen Schwankungen als kleine Zacke markiert, läßt keine Veränderung wahrnehmen.

Die eben geschilderten Verhältnisse der Blutdruckkurve werden durch eine graphische Darstellung (Abb. 2) besonders deutlich. In der Abszisse sind die zeitlichen Abstände im Verlauf des Versuchs eingetragen, auf der

Ordinate die absoluten Werte des Blutdrucks, der Amplitude und der Pulsfrequenz/Min. mit einigen Angaben über die prozentuale Zu- bzw. Abnahme dieser Werte, indem der Ruhewert = 100% angenommen ist. Das Diagramm ermöglicht bequem einen Vergleich mit früher mitgeteilten (5), nach derselben Methode gewonnenen Ergebnissen unter Strophanthineinfluß. Das in der Abb. 5 der eben erwähnten Arbeit gezeichnete Diagramm zeigte im Gegensatz zur Bufotalinkurve ein deutliches Absinken der Amplitude schon während der Injektion, das dadurch zustande kam, daß die diastolischen Werte etwas steiler als die systolischen anstiegen.

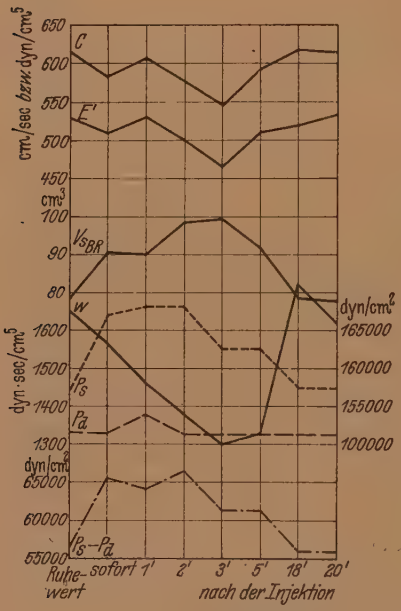


Abb. 3. Schlagvolumenbestimmung bei 0,5 mg Bufotalin i. v.

Im weiteren Verlauf der Strophanthinkurve kam dann die Amplitude nach einem über den Ruhewert hinausgehenden Anstieg im Anschluß an die Injektion wieder bald zu den Ruhewerten zurück. Die beiden Diagramme zeigen somit deutlich den Unterschied zwischen Bufotalin und Strophanthin in ihrer Wirksamkeit auf den Blutdruck. Wie weit es berechtigt war, aus den Änderungen der Amplitudengröße richtungsmäßig auf solche des Schlagvolumens zu schließen, wie wir das unter großem Vorbehalt in der früheren Arbeit taten, zeigen die folgenden Schlagvolumenbestimmungen.

Die Wiedergabe eines Versuchs mit Bufotoxin ist erläßlich. Die Kurve enthält die gleichen Merkmale der Wirkung wie die des Bufotalins. Es scheint, daß die charakteristischen Änderungen der Amplitude und der Pulsfrequenz sogar hier noch deutlicher hervortreten.

An 5 Bufotalinversuchen haben wir Schlagvolumenbestimmungen durchgeführt, und zwar 3 bei 0,25 mg und 2 bei 0,5 mg intravenös, mit je 7 Einzelbestimmungen in jedem Versuch. Die charakteristischen Änderungen der Kreislauffaktoren treten am deutlichsten in den Versuchen mit 0,5 mg hervor, von denen wir die eine mit den für die Beurteilung der Kreislaufwirkung wichtigsten Größen in Abb. 3 graphisch zur Ansicht bringen. In der Abszisse sind die zeitlichen Abstände aufgetragen, in der die Einzelbestimmungen einander folgen, auf der Ordinate die absoluten Maße der Pulswellengeschwindigkeit c, des Elastizitätsmoduls E', des Schlagvolumens nach Broemser-Ranke V_{sBR}, des peripheren Widerstandes w und der Blutdruckwerte P_s, P_d und $P_s - P_d$.

Im Diagramm fällt die Kurve des Schlagvolumens und des peripheren Widerstandes am meisten auf. Das Schlagvolumen vergrößert sich bis

zur 3. Minute nach der Injektion und erreicht hier eine Zunahme von 25%, indem im gleichen Moment der elastische wie der periphere Widerstand ihr Minimum durchlaufen. In 18—20 Min. kehrt das Schlagvolumen zu seinem Ausgangswert zurück. In den Versuchen mit 0,25 mg Bufotalin ist die Vergrößerung des Schlagvolumens nicht immer so deutlich hervorgetreten. Ein Vergleich der Schlagvolumenkurve mit der der Blutdruckamplitude läßt im groben Umriß richtungsmäßig eine ungefähre Übereinstimmung erkennen. An dem Kurvenverlauf der Pulswellengeschwindigkeit und des Elastizitätsmoduls ist im allgemeinen unmittelbar nach der Injektion eine geringe Erhöhung dieser Faktoren zu beobachten, der dann 3—5 Min. nach der Injektion eine stärkere Erniedrigung folgt, die gegen Ende des Versuchs zu den Anfangswerten hin verschwindet. Die mit der Riva-Rocci-Methode gewonnenen Blutdruckwerte dieses Versuchs unterscheiden sich von denen der Kurve in Abb. 1 nur durch die etwas höheren systolischen Werte, die auch erheblich langsamer in ihre Ruhelage übergehen, während die ungefähre Konstanz der diastolischen Werte in beiden Abbildungen deutlich zutage tritt. Ganz charakteristisch ändern sich die Werte für den Widerstand, die hier bis zur 3. Minute nach der Injektion fast linear absinken und erst in der 18. Minute sich wieder den Ruhewerten nähern.

Um Bufotalin mit Strophanthin in der Wirkung auf den Kreislauf vergleichen zu können, haben wir auch an Strophanthin in der Dosis von 0,5 mg 2 Schlagvolumenbestimmungen durchgeführt, die ein gut übereinstimmendes Ergebnis zeitigten (s. Fußnote S. 370). Als Beispiel zeigen wir einen Versuch, der in Abb. 4 in gleicher Form als Diagramm dargestellt ist. Das Schlagvolumen wird im Laufe des Versuchs nicht sehr erheblich verändert. Nach der Injektion ist eine kleine Vermehrung festzustellen, die im anderen Versuch wesentlich größer ist, die dann einer Verringerung weicht. $3^1/_2$ Min. nach der Injektion bis zum Versuchsende nähern sich dann die Werte des Schlagvolumens wieder knapp den Ausgangswerten. Im ganzen betrachtet, gewinnt man aus dieser Kurve den Eindruck, daß das Schlagvolumen unter Strophanthineinwirkung am Gesunden nach vorübergehendem Anstieg eine geringe Verminderung erfährt, worauf im Unterschied zum Verlauf der Schlagvolumenkurve bei Bufotalin (Abb. 3) mit ihrem beträchtlichen Anstieg hingewiesen sei.

Durch die Schlagvolumenbestimmung sind wir in der Lage, das Bild zu ergänzen, das wir in unserer früheren Arbeit (5) von der Schlagvolumenänderung unter Strophanthineinfluß lediglich auf Grund der Größenänderung der Amplitude nur vorsichtig tastend entwarfen. Die dort im Diagramm der Abb. 5 erscheinende initiale Abnahme der Amplitude, in Parallele gesetzt zu einer möglichen Abnahme des Schlagvolumens, die schon während der Injektion einsetzt, geht in der Schlagvolumenbestimmung verloren, da die erste Aufnahme nach der Injektion in einem Zeitpunkt erfolgt, wo diese nach der Blutdruckkurve zu erwartende Abnahme bereits wieder verschwunden ist. Die dann folgende vorübergehende Ver-

größerung der Amplitude finden wir in dem oben erwähnten Anstieg des Schlagvolumens wieder, während die aus der Schlagvolumenbestimmung sich ergebende geringe Verkleinerung des Schlagvolumens aus dem Diagramm nicht zu entnehmen ist.

Aus dem Diagramm der Abb. 4 geht ferner ein bedeutendes Ansteigen des peripheren Widerstandes hervor, das in spiegelbildlichem Gegensatz zum Absinken des Widerstandes unter Bufotalineinfluß (Abb. 3) steht. Am Ende des Versuchs, 25 Min. nach der Injektion, sind die Werte noch deutlich höher als vor der Injektion, scheinen aber bald den Ausgangswerten zuzustreben. An Pulswellengeschwindigkeit und Elastizitätsmodul sind keine intensiven Veränderungen wahrzunehmen; die Kurven haben eine schwache Ähnlichkeit mit denen der Abb. 3. Die Blutdruckwerte zeigen einen deutlichen Anstieg, ganz besonders zunächst die systolischen Drucke. Das im Diagramm unserer früheren Arbeit (5) festgestellte stärkere Ansteigen der diastolischen Werte kann hier nicht wieder auftreten, da diese Erscheinung schon in die Zeit während der Injektion fällt und bereits wieder gewichen ist, wenn bei der Schlagvolumenbestimmung nach der Injektion die Blutdruckuntersuchung erfolgt. Gerade hierin zeigt sich der besondere Vorteil einer fortlaufenden Blutdruckschreibung, die es gestattet, in jedem Moment die systolischen und diastolischen Blutdruckwerte abzulesen. Im übrigen entspricht die Blutdruckkurve der Abb. 4 fast genau den mit dem Wagnerschen Apparat geschriebenen aus unserer früheren Veröffentlichung. Der Verlauf der Amplitudenkurve (Abb. 4) gleicht richtungsmäßig sehr gut dem des Schlagvolumens. Im Gegensatz zum Bufotalinversuch zeigen bemerkenswerterweise auch die diastolischen Druckwerte einen Anstieg. Die vom Blutdruckapparat geschriebenen Kurven werden somit mit völlig anderer Methodik bestätigt.

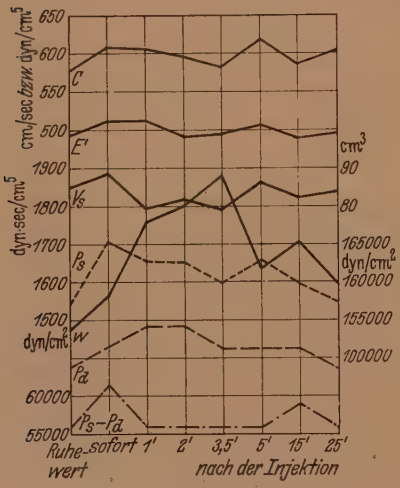


Abb. 4.
Schlagvolumenbestimmung bei 0,5 mg Strophanthin i. v.

Besprechung der Ergebnisse.

An den mit Bufotalin gewonnenen Blutdruckkurven läßt sich zunächst die Tatsache feststellen, daß bei einer Erhöhung der systolischen Blutdruckwerte die diastolischen Drucke im großen ganzen ihr Niveau wahren. Demzufolge erfährt die Pulsdruckamplitude eine deutliche Vermehrung,

die allmählich wieder zu den Ruhewerten hin verschwindet. Diese gegenüber dem Strophanthineinfluß auffallende andersartige Wirksamkeit des Bufotalins führt zu der Vermutung, daß das Bufotalin sich auf das Gefäßsystem in anderer Weise auswirkt als das Strophanthin. Das hat uns zur Vornahme von Schlagvolumenbestimmungen veranlaßt, um gleichzeitig aus ihnen zahlenmäßige Angaben über den peripheren Widerstand zu erhalten. Aus diesen Untersuchungen geht eindeutig hervor, daß unter Bufotalinwirkung der Widerstand erheblich abfällt, das Schlagvolumen deutlich zunimmt, während Strophanthin zu einem Anstieg des Widerstandes führt, wobei das Schlagvolumen nach vorübergehender Zunahme eine geringe Verkleinerung erfährt.

Die gute Übereinstimmung der pflanzlichen und tierischen herzwirksamen Stoffe in biochemischer und pharmakologischer Hinsicht läßt an sich keine tiefgreifenden Wirkungsunterschiede erwarten. Wenn die Kreislaufanalyse am gesunden Menschen nun doch unterschiedliche Effekte zwischen den beiden Giftarten ergibt, so kann das 1. in verschiedener Wirkung auf das Herz oder 2. auf das Gefäßsystem seinen Grund haben.

1. Die Krötengiftstoffe sind in ihrer Herzwirkung pharmakologisch gründlich untersucht worden. Jensen, Chen und Chen (10) haben die isolierten herzwirksamen Stoffe der europäischen Kröte und von 9 anderen Krötenarten geprüft und haben ihre qualitativen Wirkungen am isolierten Froschherzen in ihren Grundzügen überall gleichartig untereinander und mit den Digitalisglykosiden gefunden.

Man ist daher berechtigt, die Untersuchungsergebnisse, die Reichel (11) durch experimentelle Analyse der Strophanthinwirkung am Froschherzen gewann, auch für das Bufotalin geltend anzunehmen. Reichel konnte eine doppelte gleichzeitige Wirkungsweise des Strophanthins feststellen: Es übt einerseits beim (in erster Stanniusscher Ligatur) stillstehenden, künstlich gereizten Herzen eine stets positiv inotrope, direkt muskuläre Wirkung auf die kontraktilen Elemente aus. Hierbei bleibt aber im Gegensatz zum ermüdeten beim frischen, d. h. gesunden Herzen, das Schlagvolumen gleich groß. Andererseits kommt dem Strophanthin, wie aus Versuchen an spontan schlagenden Herzen erkenntlich gewesen ist, auch eine Wirkung im Vagussinne zu. Diese Vaguswirkung beruht, wie man heute allgemein annimmt (12), auf Grund der Forschung von Straub (13) nicht auf einer direkten Reizung des Vaguszentrums, sondern darauf, daß die Ansprechbarkeit der Erfolgsorgane für den physiologischen Vagustonus gesteigert wird. Daß das Schlagvolumen durch die reine Herzwirkung des Strophanthins nicht zunimmt, sahen auch Anitschkow und P. Trendelenburg (14) am Herz-Lungenpräparat, solange das Herz sich innerhalb der Suffizienzbreite befand. Das gesunde Herz arbeitet unter so optimalen Bedingungen, daß auch Strophanthineinfluß und wahrscheinlich auch Bufotalineinfluß die Auswurfmenge nicht vergrößert.

Eine unterschiedliche Wirkung des Bufotalins gegenüber dem Strophanthin im Hinblick auf eine elektive Herzwirkung ist also nicht anzunehmen. Das Schlagvolumen wird durch die Herzwirkung des Bufotalins am Gesunden nicht verändert.

2. Die unterschiedliche Wirkung zwischen Bufotalin und Strophanthin wird daher am Gefäßsystem zu suchen sein. Während über die Gefäßwirksamkeit der Krötengifte unseres Erachtens kaum eine Untersuchung erfolgt ist, besteht in dieser Hinsicht über Strophanthin und verwandte Stoffe eine umfassende Literatur [Weese (12)]. So zahlreich auch die Untersuchungen sind, so darf man auch heute noch „die Gefäßwirkung der Glykoside als das unbefriedigendste Kapitel experimenteller Digitalisforschung bezeichnen" (Weese). Um die Gefäßwirkung des Bufotalins, wie sie sich in unseren Schlagvolumenbestimmungen in einer deutlichen Senkung des peripheren Widerstandes kundgibt, einer Erklärung zuzuführen, müssen wir zunächst von den gleichen Verhältnissen bei Strophanthin ausgehen. Durch die grundlegenden Versuche von Gottlieb und Magnus (15) wurde die Gefäßwirkung der Digitalis festgestellt. Sie konnten einerseits eine Gefäßkontraktion im Splanchnicusgebiet, andererseits eine Gefäßdilatation im Gebiet der Extremitäten (Haut-Muskelgefäße) nachweisen. Nach Auffassung der Autoren kam die Dilatation 1. „durch die passive Dehnung zustande, welche die Gefäße durch das aus den Eingeweiden verdrängte Blut erfahren, 2. durch eine aktive reflektorische Erweiterung, welche durch die Verengerung der Bauchgefäße ausgelöst wird." Es scheint uns aber sehr fraglich, ob die Versuche, mit denen die Verfasser ihre Auffassung über das Zustandekommen der passiven Gefäßdilatation begründen, volle Beweiskraft besitzen, nachdem sie das gesamte Splanchnicusgebiet des Versuchstieres durch Unterbindung aller zu- und abführenden Gefäße funktionell ausgeschaltet haben. Daß nach einem solchen Eingriff die Gefäße der Extremitäten noch eine normale Reaktion auf Digitalis zeigen sollen, kann kaum angenommen werden.

Wir möchten dagegen die Auffassung vertreten, daß den Herzglykosiden eine blutverteilende Wirkung in dem Sinne zukommt, daß sie gleichzeitig verschiedene Gefäßgebiete unterschiedlich beeinflussen bzw. daß die Gefäße verschiedener Gebiete unterschiedlich auf diese Pharmaka reagieren. Während sie konstriktorisch im Splanchnicusgebiet wirken, beeinflussen sie gleichzeitig die Haut-Muskelgefäße der Extremitäten dilatatorisch, genau so, wie es nach Schemensky (16) unter Digitalis zu einer Erweiterung der Nierengefäße mit diuretischer Wirkung kommt. Für die Höhe des peripheren Widerstandes im gesamten Gefäßsystem ist dann lediglich maßgebend, welche Art der Gefäßbeeinflussung überwiegt.

Entsprechend der Übereinstimmung in der chemischen Konstitution kann nach der eben vertretenen Auffassung auch die Wirkung des Bufotalins auf das Gefäßsystem prinzipiell als der Glykosidwirkung gleichartig an-

gesehen werden. Auch das Bufotalin greift wahrscheinlich konstriktorisch in das Splanchnicusgefäßgebiet und dilatatorisch in das Gefäßgebiet der Extremitäten ein, aber mit dem Unterschied gegenüber den Glykosiden, daß die dilatatorische Komponente überwiegt. Die nach dem chemischen Aufbau zu erwartende Wirkungsähnlichkeit der beiden Pharmaka bleibt so auch gegenüber den Unterschieden, die die Kreislaufanalyse ergibt, gewahrt. Der Antagonismus zwischen den Gefäßen des Bauchraumes und denen der Körperperipherie ist ja der Physiologie nicht fremd und z. B. in der Wärmeregulation deutlich vorgezeichnet. Auch ist es durchaus geläufig, daß ein und dasselbe Mittel in der gleichen Dosis auf verschiedene Gefäßgebiete unterschiedliche Wirkung ausübt, z. B. das Adrenalin, das auf Grund der jeweiligen Stoffwechsellage in ruhenden Organen konstriktorisch, in tätigen dilatatorisch wirkt.

Die dilatatorische Komponente des Bufotalins zeigt sich in Abb. 3 deutlich im Absinken des peripheren Widerstandes. Infolgedessen nimmt das Schlagvolumen zu, bis zur 3. Minute nach der Injektion. Da wir aber auch eine gleichzeitige, wenn auch geringe arterielle, vielleicht venös stärkere Vasokonstriktion im Splanchnicusgebiet annehmen, wird dem Herzen mehr Blut zufließen als im unbeeinflußten Zustand und die Auswurfmenge vergrößern. Überdies wirkt die stets bei Bufotalin auftretende Pulsverlangsamung — in Abb. 3 nicht dargestellt — mit der damit verbundenen längeren Diastole im fördernden Sinne auf die Herzarbeit. Das Herz kann sich stärker füllen und gewinnt durch stärkere Wanddehnung eine größere Anfangsspannung. Auf die so erlangte größere Kraftentfaltung des Herzens sind die höheren systolischen Drucke zurückzuführen. Daß die diastolischen Druckwerte trotz des Abstiegs des Widerstandes sich praktisch kaum verändern, liegt wahrscheinlich am Verhalten der Gefäßelastizität. Der Windkessel wird weicher, und dadurch wird wahrscheinlich das Niveau des diastolischen Druckes hochgehalten.

Im Gegensatz zur Bufotalinkurve ist für Strophanthin offensichtlich die konstriktorische Komponente der Gefäßwirkung ausschlaggebend, wie man aus Abb. 4 am Anstieg des peripheren Widerstandes erkennen kann. Auch in den Versuchen von Böger und Diehl (18), die nach der gleichen Methode Schlagvolumenbestimmungen bei Strophanthinwirkung an Patienten ausführten, kam es in fast allen Fällen zu einer Widerstandserhöhung. Sofort nach der Injektion erfährt das Schlagvolumen eine Zunahme, indem infolge der konstriktorischen Wirkung zunächst eine Entspeicherung der Blutreservoirs des Splanchnicusgebietes erfolgt. Das weitere starke Ansteigen des peripheren Widerstandes wirkt sich nun aber erschwerend auf die Arbeit des Herzens aus, so daß es trotz auch hier stets vorhandener Bradykardie — in der Abbildung nicht dargestellt — nicht in der Lage ist, weiterhin gleichviel Blut auszuwerfen. Das Schlagvolumen sinkt daher etwas ab. Um den Widerstand im Gefäßsystem des Splanchnicus zu über-

winden, muß das Herz größere Druckarbeit leisten, die in der Erhöhung des Blutdrucks sich deutlich abzeichnet. Der Elastizitätsmodul läßt keine wesentlichen Veränderungen erkennen.

Somit konnten wir die unterschiedlichen Ergebnisse zwischen Bufotalin- und Strophanthinwirkung, wie sie sich aus den Blutdruckkurven feststellen ließen, mit Hilfe der Kreislaufanalyse durch Schlagvolumenbestimmungen noch spezieller erläutern und einer Erklärung zuführen. Es wäre durchaus denkbar, daß aus diesem verschiedenartigen Verhalten entsprechende therapeutische Konsequenzen gezogen werden. Für eine medikamentöse Anwendung sind die Krötengifte bei gleicher Giftwirkung wie die Digitaliskörper außerdem mit dem Vorzug geringerer Haftfähigkeit am Herzen ausgestattet, so daß die Gefahr einer Kumulierung sehr eingeschränkt ist (19).

Zusammenfassung.

1. Mit dem von R. Wagner entwickelten Verfahren einer fortlaufenden Blutdruckschreibung am Menschen wird eine Reihe von Versuchen mit Bufotalin in intravenösen therapeutischen Gaben an gesunden Versuchspersonen beschrieben. Während die systolischen Druckwerte ansteigen, bleiben die diastolischen Drucke ungefähr konstant, wodurch die Amplitude eine Vergrößerung erfährt. Diese Ergebnisse werden den in einer früheren Arbeit beschriebenen, mit der gleichen Methode gewonnenen Ergebnissen unter Strophanthineinwirkung gegenübergestellt.

2. Durch Schlagvolumenbestimmungen nach der Methode von Broemser und Ranke werden die mit der Wagnerschen Blutdruckschreibung erhaltenen Resultate der Bufotalin- und Strophanthinwirkung bestätigt, ergänzt und einer näheren Kreislaufanalyse unterzogen. Dabei zeigt sich, daß bei Bufotalin der periphere Widerstand absinkt, das Schlagvolumen ansteigt. Der weicher werdende Windkessel verhindert wahrscheinlich ein Absinken des diastolischen Druckes. Unter Strophanthineinfluß wird der periphere Widerstand vergrößert, während das Schlagvolumen nach vorübergehendem leichten Anstieg sich gering vermindert.

3. Es wird die Auffassung vertreten, daß Strophanthin und Bufotalin ihrer chemischen Übereinstimmung entsprechend prinzipiell gleichartig auf die verschiedenen Gefäßgebiete wirken. Das Splanchnicusgefäßgebiet wird konstriktorisch beeinflußt, die Gefäße der Körperperipherie (Haut-Muskel) dilatatorisch. Der Unterschied in der Wirkung der beiden Mittel besteht nur graduell. Für die Höhe des peripheren Widerstandes im gesamten Gefäßgebiet ist nur maßgebend, welche Art der Gefäßbeeinflussung überwiegt. Bei Bufotalin tritt wahrscheinlich die dilatatorische Komponente in der Körperperipherie, bei Strophanthin die konstriktorische im Splanchnicusgebiet stärker hervor.

Literatur.

1) Wieland u. Weil: Ber. dtsch. chem. Ges. **46**, 3315 (1913). — 2) Struppler: Diss. München 1943. — 3) Gessner: Ther. Gegenw. **81**, 343 (1940). — 4) Chen u. Chen: Arch. Pharmacodyn. **47**, 297 (1934). — 5) Busse u. Struppler: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **202**, 132 (1943). — 6) Wagner, R.: Methodik und Ergebnisse fortlaufender Blutdruckschreibung am Menschen. Leipzig, Georg Thieme, 1942. — 7) Broemser u. Ranke: Z. Biol. **90**, 467 (1930). — 8) Wetterer u. Deppe: Ebenda **99**, 320 (1939); **100**, 105 (1940). — 9) Bauereisen u. Busse: Ebenda im Druck. — 10a) Chen u. Chen: J. Pharmacol. (Am.) **49**, 548 (1933); b) Jensen, Chen u. Chen: Ebenda **43**, 435 (1931). — 11) Reichel: Z. Biol. **99**, 590 (1939). — 12) Woese: Digitalis. Leipzig, Georg Thieme, 1936. — 13) Straub, W.: Heffters Handb. exper. Pharmak. **2**, 1422 (1924). — 14) Anitschkow u. P. Trendelenburg: Dtsch. med. Wschr. **40**, 1672 (1928). — 15) Gottlieb u. Magnus: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **47**, 135 (1902). — 16) Schemensky: Ebenda **100**, 367 (1923). — 17) Böger u. Diehl: Ebenda **172**, 551 (1933). — 18) Tschesche: Erg. Physiol. usw. **38**, 31 (1936).

Aus dem wissenschaftlichen Laboratorium der C. F. Boehringer & Söhne G. m. b. H., Mannheim-Waldhof.

Über Kombinationen östrogener Wirkstoffe.

Von

H. E. Voss.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 15. Mai 1943.)

Die Entdeckung, daß Derivate von verschiedenen Kohlenwasserstoffen, die den natürlichen Follikelhormonen in ihrem chemischen Aufbau sehr ferne stehen, dennoch durchaus ähnliche Wirkungen am weiblichen Genitalapparat auszuüben imstande sind wie jene natürlichen Wirkstoffe, war geeignet, Zweifel an der Spezifität dieser Wirkungen auszulösen. Diese Zweifel erlangten eine erhöhte Berechtigung, als sich herausstellte, daß auch die wirksamen Dosen mancher dieser Kunststoffe im gleichen Größenbereich liegen wie bei den wirksamsten Naturstoffen. Man hat versucht, die hormonähnliche Wirkung dieser Stoffe, vor allem der Stilbenderivate, welche die stärkstwirksamen sind, dadurch dem Verständnis näher zu bringen, daß man in der sterischen Anordnung der Ringe im Östron einerseits, im Stilböstrol andererseits eine gewisse Ähnlichkeit festzustellen sich bemühte. Befriedigen können aber diese mehr oder weniger konstruierten Erklärungsversuche nicht (z. B. Mossini, 1940).

Wenn wir um eine Erklärung der gleichen Wirkung so verschiedener Stoffe verlegen sind, so liegt es in der Hauptsache wohl daran, daß wir über den Wirkungsmechanismus der östrogenen Stoffe noch stark im unklaren sind. Wir wissen, daß das Follikelhormon eine hyperämisierende Wirkung nicht nur am weiblichen Genitalapparat ausübt, sondern auch periphere Durchblutungsstörungen günstig zu beeinflussen vermag (Ratschow, Korbsch); es besitzt eine proliferative Wirkung, die sich ebenfalls nicht nur an den Organen des Genitaltraktus des Weibchens äußert, sondern auch an manchen Anhangsdrüsen des männlichen Geschlechtsapparates (z. B. Vesikulardrüsen) und, wie es scheint, auch ganz allgemein bei Epitheldefekten (Tamburello, 1936; Bayer, 1943) zum Ausdruck kommt. Aber schon die Frage, ob die proliferative Wirkung nur eine Folge der primären Hyperämie ist oder unabhängig von dieser ausgeübt wird, ist ungeklärt, wenn auch die Versuche einer Ausschaltung der Hyperämie durch Atropinisierung der Versuchstiere (Hechter, Lev und Soskin, 1940) die Unabhängigkeitsthese zu stützen scheinen. Andererseits sprechen die negativen Ergebnisse des Versuchs,

Vaginal- und Uterusgewebe in vitro durch Follikelhormon zu beeinflussen (Emmens und Ludford, 1940), in einem gewissen Grade für eine indirekte Wirkung.

Auf der Suche nach einem Wege, der zu einer Klärung des Wirkungsmechanismus der östrogenen Stoffe führen könnte, tauchte die Frage auf, ob nicht gegebenenfalls eine Verschiedenheit der natürlichen Follikelhormone und der synthetischen östrogenen Stoffe bei einer Kombination von Substanzen aus der einen und aus der anderen Gruppe zum Ausdruck kommen könnte.

Die Frage einer Kombination östrogener Wirkstoffe ist, soviel mir bekannt, noch niemals experimentell angegangen worden, wenn wir von den unbeabsichtigten und unbewußten Kombinationsversuchen absehen, die bei der Verwendung von Rohextrakten aus Ovarien oder aus Harn und bei der Implantation von Eierstöcken in den ersten Zeiten der Follikelhormonforschung stattgefunden haben; da weder über die Natur der Komponenten in diesen Versuchen, noch viel weniger aber über ihr quantitatives Verhältnis etwas bekannt geworden ist, so können wir daraus für unsere Zwecke nichts entnehmen. Der Mangel an solchen experimentellen Erfahrungen ist um so erstaunlicher, als von mancher Seite immer wieder die therapeutischen Vorzüge eines „alle Hormone des Eierstockes in natürlicher Mischung" enthaltenden Ovarialextraktes gegenüber dem Reinpräparat des kristallisierten Östrons oder Östradiols in die Waagschale geworfen werden.

Bei dieser vollkommenen Unkenntnis des Einflusses gleichzeitiger Anwendung verschiedener östrogenen Stoffe konnte man a priori nicht sagen, welche der drei Möglichkeiten verwirklicht sein würde: Ob die Kombination a) quantitativ genau so wirkt wie äquivalente Mengen der jeweiligen Komponenten oder ob sich b) eine Abschwächung der Wirkung oder c) eine Verstärkung herausstellen würde. Qualitative Abänderungen der Wirkung waren bei der Prüfung im Östrustest kaum zu erwarten, doch mußte jedenfalls auf zeitliche Unterschiede geachtet werden, die sich bei Östruseintritt und Östrusdauer ergeben konnten und angeblich so charakteristisch für die einzelnen Substanzen sein sollen, daß sie z. B. von Stasiak und Farkas (1940) für die Erkennung der verschiedenen Östrogene nutzbar gemacht werden (vgl. dazu aber die Anmerkung auf S. 393).

Das Programm der im folgenden zu beschreibenden Versuche war durch die obige Fragestellung bestimmt: Ein natürliches Follikelhormon (Komponente *A*) mußte einerseits mit einem synthetischen östrogenen Stoff (Komponente *B*), andererseits mit einem anderen natürlichen Follikelhormon (Komponente *C*) kombiniert und das Vorhandensein oder Fehlen einer Wirkungsänderung geprüft werden. Als Komponente *A* diente das aus Stutenharn gewonnene Östron (in Form des „Perlatan"), Schmelzpunkt 254—259°, Drehung $\alpha_{(D)} = +160$; als Komponente *B* wurde in einer Versuchsreihe das hochwirksame Diäthylstilböstrol, Schmelz-

punkt 182°, in einer zweiten Versuchsreihe das erst in größeren Dosen wirksame 3,4-p-Oxyphenyl-hexandiol-dipropionat, Schmelzpunkt 144°, verwandt; die Komponente *C* schließlich lieferte das unveresterte α-Östradiol, Schmelzpunkt 174°, Drehung $\alpha_{(D)} = +80$ in Dioxan. Als Versuchstiere dienten kastrierte Rattenweibchen, eine Gruppe von etwa 200 Tieren, die mit den nötigen Ruhepausen für alle geprüften Substanzen und ihre Kombinationen als Testtiere benutzt wurden. Die Substanzen wurden in Öl gelöst, die jeweilige Gesamtdosis (auch der Kombinationen) in 0,5 ccm, die auf fünf subcutane Injektionen zu 0,1 ccm verteilt wurden: Die erste Injektion am Montag früh, die zweite am Montag nachmittag, die nächsten zwei Injektionen am Dienstag vormittag und nachmittag und die letzte Injektion am Mittwoch früh, so daß die gesamte Injektionsdauer 48 Std. betrug*. Vaginalabstriche wurden am Montag und Dienstag vormittag, am Mittwoch, Donnerstag und Freitag vor- und nachmittag ausgeführt**.

Unterschieden wurden die drei Wirkungsgrade: Keine Wirkung, wenn keiner der Abstriche eine Abweichung vom diöstralen Bild aufwies; Proöstrus, wenn die beobachteten Veränderungen des Abstrichs sich auf das Auftreten von reichlichen kernhaltigen Epithelzellen und wenigen verhornten Zellen, unter Verschwinden der Leukocyten beschränkten; Östrus, wenn mindestens einer der Abstriche ausschließlich oder nahezu ausschließlich (90 %) verhornte Zellen aufwies. Es ist selbstverständlich, daß sämtliche Versuchsratten nach der Kastration zunächst über Wochen auf die Abwesenheit spontaner Östruserscheinungen geprüft waren und daß sie nachher nötigenfalls etwa alle 2—3 Wochen mit einer Vollöstrusdosis Follikelhormon behandelt wurden, um die Reaktionsfähigkeit der Vaginalschleimhaut zu erhalten.

In Vorversuchen wurde zunächst die Wirksamkeit der einzelnen Prüfsubstanzen bestimmt.

Bezeichnet man, wie bei uns üblich, eine Ratteneinheit (RE.) als diejenige geringste Menge des östrogenen Stoffes, die bei mindestens 75 % der eingesetzten Versuchstiere Östrus bedingt, so liegt die RE. des Östrons bei 0,9 γ (80 % Östrus), des Östradiols bei 0,1 γ (100 % Östrus), des Diäthyl-

* Wir haben darauf verzichtet, für die einzelnen Substanzen das Zuführungsoptimum zu ermitteln, wie es Koll und Nocken (1939) verlangen; eine etwaige Verschiedenheit des Optimums hätte in unserer Versuchsanordnung doch nicht berücksichtigt werden können, weil ja das zeitliche Zusammenwirken der verschiedenen Substanzen geprüft werden sollte. Wir haben uns daher an dasjenige Zuführungsschema gehalten, das wir seit Jahren benutzen und über das wir die reichsten Erfahrungen besitzen. Auch hätte ein unterschiedlicher Injektionsmodus zahlreiche Komplikationen in die Versuche eingeführt, die dadurch an Übersichtlichkeit und Vergleichbarkeit verloren hätten.

** Eine noch größere Häufigkeit der Abstriche erscheint nach unseren Erfahrungen nicht notwendig; wir haben früher drei Abstriche täglich gemacht (morgens, nachmittags und spät abends), konnten uns aber davon überzeugen, daß die Zahl der auf diese Weise zusätzlich erfaßten Vollöstren sehr gering ist.

Tabelle 1.

Substanz	Dosis γ	RE.	Zahl der Ratten			Prozentzahl der Ratten mit Östrus
			keine Wirkung	Pro-östrus	Östrus	
Östron (Perlatan)	0,1	4/36	8	2	0	0
	0,2	8/36	9	1	0	0
	0,3	12/36	6	14	5	20
	0,4	16/36	3	17	10	33,3
	0,5	20/36	2	7	11	55
	0,6	24/36	2	7	11	55
	0,7	28/36	4	4	12	60
	0,8	32/36	0	7	13	65
	0,9	36/36	0	4	16	80
	1,0	40/36	0	2	18	90
α-Östradiol	0,025	9/36	1	9	0	0
	0,05	18/36	1	8	1	10
	0,075	27/36	0	12	8	40
	0,1	36/36	0	0	20	100
	0,2	72/36	0	2	18	90
	0,3	108/36	0	0	20	100
Diäthylstilböstrol	0,025	9/36	6	4	0	0
	0,05	18/36	6	4	0	0
	0,075	27/36	2	16	2	10
	0,1	36/36	0	0	20	100
	0,2	72/36	0	0	20	100
	0,3	108/36	0	0	20	100
3,4-p-Oxyphenyl-hexandiol-dipro-pionat	1,0	etwa 2/36	8	2	0	0
	2,5	„ 5/36	6	4	0	0
	5,0	9/36	5	5	0	0
	6,5	„ 12/36	2	8	0	0
	10,0	18/36	4	10	5	26
	15,0	27/36	3	13	9	36
	20,0	36/36	0	5	17	77
	30,0	54/36	0	0	20	100
	40,0	72/36	0	0	20	100

stilböstrols ebenfalls bei 0,1 γ (100 % Östrus) und des 3,4-p-Oxyphenyl-hexandiol-dipropionats bei 20 γ (77 % Östrus).

Zu dieser Festlegung der RE. für die vier untersuchten Substanzen sei noch bemerkt, daß sie sich tatsächlich auf bedeutend mehr Versuche stützt, als in der obigen Tabelle angegeben, die sich nur auf die 200 für diese spezielle Untersuchung eingesetzten Rattenweibchen bezieht. Nur weil auch die sonstigen Versuche mit Östron, Östradiol und den beiden synthetischen Östrogenen mit der obigen Tabelle übereinstimmende Werte für die jeweilige RE. ergaben, konnte auf eine genauere Auswertung mit geringerem Dosenabstand und an einer größeren Zahl von Tieren verzichtet werden.

Die Kombinationsversuche wurden in der Weise angestellt, daß unterschwellige Bruchteile der RE. der einzelnen Substanzen miteinander gepaart wurden; da hierbei auch die Summe der vereinigten Bruchteile unterhalb der RE. gehalten wurde, mußte man durch Vergleich mit ent-

sprechenden unterschwelligen Dosen der reinen, unvermischten Kombinationspartner feststellen können, ob die Kombination zu einer Wirkungssteigerung führe oder nicht. Im einzelnen wurden folgende Kombinationen geprüft*:

Östron	0,1 γ = 4/36 RE.	Jede dieser Dosen wurde kombiniert mit:
	0,2 γ = 8/36 „	
	0,3 γ = 12/36 „	
	0,4 γ = 16/36 „	
Östradiol	0,025 γ = 9/36 RE.	
	0,05 γ = 18/36 „	
Diäthylstilböstrol	0,025 γ = 9/36 RE.	
	0,05 γ = 18/36 „	
3,4-p-Oxyphenyl-hexandiol-dipropionat	5 γ = 9/36 RE.	
	10 γ = 18/36 „	

Danach schwankte die biologische Wertigkeit der Kombinationen zwischen 13/36 RE. im Mindestfall (z. B. 0,1 γ Östron + 0,025 γ Östradiol) und 34/36 RE. im Höchstfall (z. B. 0,4 γ Östron + 0,05 γ Östradiol). Jeder Kombinationsversuch wurde an 20—30 Ratten durchgeführt**. In der folgenden Tabelle sind die Versuche nach der biologischen Wertigkeit der injizierten Substanzmengen angeordnet, wobei als Grundsubstanz in allen Versuchen das Östron fungiert.

Bei der Kombination I, deren biologische Wertigkeit 13/36 RE., also rund einem Drittel RE. entspricht, sieht man gegenüber der additiv zu erwartenden Prozentzahl an Östren keinen wesentlichen Unterschied, denn die 14 % Östren bei der Kombination Östron + Östradiol weichen nicht genügend von 0 % (additiv) ab, um daraus auf eine erhöhte Wirksamkeit schließen zu dürfen.

In den Versuchen mit Kombination II (17/36, also etwa 1/2 RE.) weichen die Ergebnisse bei der Vereinigung von Östron mit den synthetischen Östrogenen ebenfalls von der Additivzahl nicht ab. Anders bei der Kombination Östron + Östradiol: hier finden wir 50 % Östren gegenüber 0 % bei der additiv zu erwartenden Zahl, also eine deutliche Steigerung.

Das gleiche gilt für Kombination III (21/36 oder 3/5 RE.), auch hier ergibt sich in den Versuchen mit den synthetischen Komponenten keine

* Zum besseren Vergleich werden die Dosen nicht nur in γ, sondern gleichzeitig auch in Sechsunddreißigsteln der RE. angegeben (36 ist das kleinste gemeinsame Vielfache für die Nenner der verschiedenen benutzten Bruchteile der RE). Die RE. ist also = 36/36; beim Östron entsprechen 0,9 γ den 36/36 der RE., 0,4 γ sind 16/36 der RE.; beim Östradiol ist 0,1 γ = 36/36 RE., 0,025 γ = 9/36 RE. usw.

** Aus Gründen der Raumersparnis wird auf die Wiedergabe der Versuchsergebnisse im einzelnen verzichtet und im folgenden nur das Hauptergebnis, die Prozentzahl der Östrus zeigenden Ratten wiedergegeben.

Tabelle 2.

Gruppe	Kombination Zusammensetzung	RE.	Prozent Östren bei A*)	B**)	C***)
I	0,1 γ Östron + 0,025 γ Östradiol	13/36	14	0	20
	0,1 γ „ + 0,025 γ Diäthylstilb.	13/36	0	0	20
	0,1 γ „ + 5,0 γ Oxyph.-Hexandiol.	13/36	0	0	20
II	0,2 γ „ + 0,025 γ Östradiol	17/36	50	0	33,3
	0,2 γ „ + 0,025 γ Diäthylstilb.	17/36	0	0	33,3
	0,2 γ „ + 5,0 γ Oxyph.-Hexandiol.	17/36	0	0	33,3
III	0,3 γ „ + 0,025 γ Östradiol	21/36	90	20	55
	0,3 γ „ + 0,025 γ Diäthylstilb.	21/36	10	20	55
	0,3 γ „ + 5,0 γ Oxyph.-Hexandiol.	21/36	13	20	55
IV	0,1 γ „ + 0,05 γ Östradiol	22/36	55	10	55
	0,1 γ „ + 0,05 γ Diäthylstilb.	22/36	0	0	55
	0,1 γ „ + 10,0 γ Oxyph.-Hexandiol.	22/36	35	26	55
V	0,4 γ „ + 0,025 γ Östradiol	25/36	92	33,3	55
	0,4 γ „ + 0,025 γ Diäthylstilb.	25/36	80	33,3	55
	0,4 γ „ + 5,0 γ Oxyph.-Hexandiol.	25/36	85	33,3	55
VI	0,2 γ „ + 0,05 γ Östradiol	26/36	70	10	55—60
	0,2 γ „ + 0,05 γ Diäthylstilb.	26/36	35	0	55—60
	0,2 γ „ + 10,0 γ Oxyph.-Hexandiol.	26/36	40	26	55—60
VII	0,3 γ „ + 0,05 γ Östradiol	30/36	70	30	60—65
	0,3 γ „ + 0,05 γ Diäthylstilb.	30/36	65	20	60—65
	0,3 γ „ + 10,0 γ Oxyph.-Hexandiol.	30/36	80	46	60—65
VIII	0,4 γ „ + 0,05 γ Östradiol	34/36	90	43,3	65—80
	0,4 γ „ + 0,05 γ Diäthylstilb.	34/36	75	33,3	65—80
	0,4 γ „ + 10,0 γ Oxyph.-Hexandiol.	34/36	100	59,3	65—80

* A = Prozentzahl der beobachteten Östren bei der betreffenden Kombination.
** B = „ „ zu erwartenden Östren bei additivem Verhalten der Komponenten.
*** C = „ „ Östren bei reiner Östrongabe von etwa der gleichen biologischen Wertigkeit.

über das Additive hinausgehende Verstärkung, während die Wirkung der Vereinigung Östron + Östradiol mit 90% weit über den bei additivem Verhalten zu erwartenden 20% liegt.

Weniger deutlich ist das bei Kombination IV (22/36 oder auch etwa 3/5 RE.): Zwar besteht auch hier ein deutlicher Unterschied zwischen dem Verhalten der Östradiolkombination mit 55% Östren und dem Verhalten der Kombination mit dem Oxyphenylhexandiol (35%) oder gar mit Diäthylstilböstrol (0%); aber offenbar ist die Herabsetzung der Östronkomponente auf $^1/_3$ gegenüber der Kombination III (0,1 statt 0,3 γ Östron) von ausschlaggebender Bedeutung, obgleich die biologische Wertigkeit mit 22/36 RE. bei Kombination IV sogar etwas höher liegt als bei Kombination III mit 21/36 RE.

Kombination V (25/36 oder etwa 5/7 RE.) zeigt mit allen 3 Zusatzkomponenten eine sehr starke Wirkungssteigerung: In allen drei Fällen (92 bzw. 80 bzw. 85% Östren) ist die RE. nach unserer Definition (s. oben

S. 384) bereits erreicht, während sich bei rein additivem Verhalten der Komponenten erst 33,3% Östren ergeben würden.

Kombination VI (26/36 oder auch etwa 5/7 RE.) zeigt gegenüber der rechnerisch fast gleichwertigen Kombination V (25/36 RE.) eine deutliche Abschwächung der Wirkung, genau so wie Kombination IV gegenüber Kombination III, aber nicht nur hinsichtlich des Östradiols, sondern auch bei den beiden synthetischen östrogenen Stoffen; man kann vermuten, daß auch hier wieder die Herabsetzung des Östronanteils der Kombination auf die Hälfte (von 0,4 auf 0,2 γ) ausschlaggebend dafür ist. Verglichen mit den additiv zu erwartenden Werten sind aber die Ergebnisse der Kombination bedeutend besser.

Auch Kombination VII (30/36 oder 5/6 RE.) reicht in ihrer Wirkung noch nicht ganz an Kombination V (25/36 RE.) heran, vermutlich weil auch in ihr der Östronanteil um $^1/_4$ niedriger liegt, was durch die Verdoppelung des Anteils des Östradiols bzw. der synthetischen Stoffe nicht wettgemacht werden kann. Trotzdem sind aber die Ergebnisse deutlich besser, als man bei rein additivem Verhalten der Komponenten erwarten könnte.

Kombination VIII liegt mit 34/36 RE. schon ganz nahe an der biologischen Wertigkeit einer RE. und dementsprechend ist auch die Wirkung in allen drei Kombinationen eine volle: 90 bzw. 75 bzw. 100% Östren. Bei rein additivem Verhalten der Komponenten wären aber auch hier sehr viel niedrigere Werte zu erwarten (43,3 bzw. 33,3 bzw. 59,3%).

Auswertung der Ergebnisse.

1. In allen Versuchen einer Kombination von Östron mit Östradiol und in den höherwertigen (ab 25/36 RE.) Versuchen mit Östron + Diäthylstilböstrol oder Östron + Oxyphenyl-hexandiol-dipropionat hat sich eine über das additive Verhalten hinausgehende Wirkungssteigerung ergeben, die fast immer so stark ist, daß man sie als außerhalb der Fehlergrenzen der Methode liegend betrachten kann.

2. Diese Wirkungssteigerung ist aber nicht unabhängig von der Art der Komponenten, sondern ist bei der Kombination des gleichen Östronanteils mit unter sich gleichwertigen Anteilen von Östradiol und den synthetischen Östrogenen durchaus verschieden. Nicht nur, daß bei den geringerwertigen Kombinationen von 13/36—21/36 RE. nur die Östradiolkombinationen eine Wirkungssteigerung zeigen, sondern auch bei höherwertigen Kombinationen sind die Zusätze von Östradiol ausnahmslos wirkungsvoller als an sich biologisch gleichwertige Zusätze der synthetischen Stoffe. Auch die beiden synthetischen Östrogene unter sich zeigen Verschiedenheiten, und zwar ist das Oxyphenyl-hexandiol-dipropionat dem Diäthylstilböstrol, wenn auch nicht bedeutend, überlegen (23 statt 0;

35 statt 0; 85 statt 80; 40 statt 35; 80 statt 65; 100 statt 75 % Östren); wenn man auch aus diesen geringen Unterschieden keine weitgehenden Schlüsse zu ziehen berechtigt ist, so verdienen sie doch wegen der Regelmäßigkeit ihres Auftretens hervorgehoben zu werden.

3. Rechnerisch an sich gleichwertige Kombinationen sind in ihrer Wirkung von dem jeweiligen Östronanteil stark abhängig, worauf schon bei der Besprechung der einzelnen Kombinationsgruppen hingewiesen wurde: Setzt man in der Kombination Östron + Östradiol den Östronanteil von 0,3 γ auf 0,1 γ herab, und erhöht statt dessen den Östradiolanteil von 0,025 γ auf 0,05 γ, wobei sich die biologische Wertigkeit der Kombination von 21/36 auf 22/36 erhöht, so geht die Prozentzahl der Östren von 90 auf 55 % herab. Auch bei der Verringerung des Östronanteils von 0,4 γ auf 0,2 γ und Erhöhung der Zusätze von Östradiol oder Diäthylstilböstrol von 0,025 auf 0,05 γ oder des Oxyphenylhexandiols von 5 auf 10 γ, was mit einer Erhöhung der biologischen Wertigkeit von 25/36 auf 26/36 RE. einhergeht, gehen die entsprechenden Östruszahlen von 92 bzw. 80 bzw. 85 % auf 70 bzw. 35 bzw. 40 % herunter.

4. Vergleicht man, wie es in der letzten Spalte der Tabelle 2 geschehen ist, die Zahl der Östren bei einer gegebenen Kombination mit der Zahl, die man bei einer Gabe reinen Östrons von der gleichen oder nahezu gleichen Wertigkeit findet, so stellt man fest, daß die Östron-Östradiolkombination dem reinen Östronwert fast immer überlegen oder mindestens ihm gleich ist (nur bei der 13/36-Kombination ist der reine Östronwert mit 20 % dem Kombinationswert mit 14 % leicht überlegen). Anders bei der Kombination von Östron mit den synthetischen östrogenen Stoffen: Hier ist der reine Östronwert den Kombinationswerten bei einer Reihe von Wertigkeitsstufen deutlich überlegen (bei 13/36, 17/36, 21/36, 22/36, 26/36); bei 30/36 kommen die Werte einander sehr nahe, und nur bei 25/36 und 34/36 sind die Kombinationswerte besser als die reinen Östronwerte: Das sind aber gleichzeitig jene Kombinationen, in denen der Östronwert besonders hoch ist (0,4 γ).

5. Vergleicht man jene Kombinationsgruppen miteinander, in denen die gleiche Östrondosis mit steigenden Dosen der Zusätze vereinigt ist (also Gruppe I mit IV, Gruppe II mit VI, Gruppe III mit VII und Gruppe V mit VIII), so sehen wir in fast allen Fällen eine dem erhöhten Zusatz entsprechende Zunahme der Östruszahlen. Eine scheinbare Ausnahme bilden Gruppe V und VIII, in denen aber eine Wirkungssteigerung einfach deshalb nicht zu sehen ist, weil schon bei der niedrigeren Kombination (V) das Maximum der Wirkung (eine RE.) erreicht ist. Eine tatsächliche Ausnahme finden wir aber in Gruppe III und VII, und zwar nur 70 % Östren bei der Kombination 0,3 γ Östron + 0,05 γ Östradiol gegenüber 90 % Östren bei 0,3 γ Östron + 0,025 γ Östradiol. Diese Ausnahme ist um so schwerer verständlich, als in den beiden anderen Kombinationen dieser

Gruppe mit den synthetischen Östrogenen eine starke Steigerung erwartungsgemäß festgestellt werden kann.

Hat nun die eingangs gestellte Frage nach dem Wirkungsmechanismus der östrogenen Stoffe durch die Ergebnisse der geschilderten Kombinationsversuche eine Klärung erfahren? Nach dem Bürgischen Schema spricht die bloß additive Wirkung zweier Komponenten für den gleichen Angriffspunkt, die potenzierte Wirkung dagegen für verschiedene Angriffspunkte der Kombinationspartner. Wo aber sollen beim Reaktionsablauf des Vaginalöstrus diese verschiedenen Angriffspunkte liegen? Wir wissen, daß es sich bei der vaginalen Brunstreaktion um eine starke Vermehrung der Schleimhautepithelzellen, um intensive Aufbauprozesse handelt, als deren Abschluß oder eher schon als Beginn der anschließenden Abbauvorgänge die Verhornung der obersten Epithellagen und ihre Abstoßung erfolgt. Der Angriff der östrogenen Substanzen kann also nur über die Beeinflussung des Zellwachstums und der Zellteilung erfolgen und man sieht eigentlich keinen Raum für verschiedene Angriffspunkte der wirksamen Substanzen. Nun wurde schon in der Einleitung darauf hingewiesen, daß noch keine Klarheit darüber herrscht, ob die proliferative Wirkung der östrogenen Stoffe selbständig sei oder nur als eine Folge der primären hyperämisierenden Wirkung zustande komme: Vielleicht hat man also in Hyperämie und Proliferation zwei scharf getrennte Bestandteile der Gesamt-Östruswirkung und damit die gesuchten verschiedenen Angriffspunkte vor sich.

Es erschien möglich, diese Annahme gerade im Zusammenhang mit den Kombinationsversuchen experimentell zu prüfen, indem man die eine der in Betracht kommenden Wirkungen, die Hyperämie, durch einen nicht östrogenen Stoff zu erzeugen versuchte und gleichzeitig unterschwellige Dosen der östrogenen Stoffe verabreichte: Sollte sich hierbei eine Verschiedenheit im Verhalten der untersuchten Stoffe zeigen, indem die einen eine deutliche Wirkungssteigerung, die anderen aber keine solche erkennen ließen, so hätte man einen Anhaltspunkt für einen unterschiedlichen Wirkungsmechanismus gewonnen und damit — nach Bürgi — eine Erklärung für die potenzierte Wirkung ihrer Kombination.

Als hyperämisierenden Stoff verwandten wir das Yohimbin, dessen Unfähigkeit, von sich aus Östrus zu erzeugen, wir noch neuerdings nachweisen konnten (Voss, 1939)*. Unterschwellige Dosen von Östron (0,5 und 0,7 γ), von Östradiol (0,05 γ), von Diäthylstilböstrol (0,05 γ) und von Oxyphenyl-hexandiol-dipropionat (1, 3, 5 und 7 γ) wurden je 10 kastrierten Rattenweibchen jedesmal in Kombination mit 500 γ Yohimbin subcutan injiziert; in keinem der Fälle ging die Zahl der in Östrus versetzten Ratten

* Auch Archetti und Bahudieri [Naunyn-Schmiedebergs Arch. **200**, 203–210 (1942)] kommen soeben auf Grund eines eigenen Testverfahrens zu einer Ablehnung der östrogenen Wirkung des Yohimbins.

über diejenige hinaus, die man bei Anwendung der gleichen Dosen ohne Yohimbin beobachtet. Nur bei der Kombination von 10 γ Oxyphenylhexandiol-dipropionat (1/2 RE.) mit 500 γ Yohimbin wurde eine deutliche Steigerung der Östruszahl von 26 auf 80 % erzielt, doch soll diesem positiven Ergebnis bei der geringen Versuchszahl (10 Ratten) gegenüber den zahlreichen anderen, durchweg negativen Versuchen mit Yohimbinkombination kein Gewicht beigelegt werden.

Durch dieses negative Ergebnis der Yohimbin-Kombinationsversuche hat das Vorhandensein eines verschiedenen Wirkungsmechanismus der untersuchten natürlichen und künstlichen östrogenen Stoffe nicht an Wahrscheinlichkeit gewonnen, wenn es auch durch diese Versuche nicht ausgeschlossen werden kann*. Es sei an dieser Stelle darauf hingewiesen, daß das grundsätzlich gleiche Verhalten des Östradiols, eines natürlichen Östrogens, einerseits und der beiden künstlichen Östrogene andererseits in ihren Kombinationen mit Östron eine Verschiedenheit des Wirkungsmechanismus von vornherein unwahrscheinlich machte; dagegen sind die quantitativen Unterschiede in der Kombinationswirkung beim natürlichen Östradiol und den künstlichen Brunststoffen sehr ausgesprochen, worauf oben (S. 388) schon hingewiesen wurde.

Bei diesem Versagen einer Erklärung für die Wirkungssteigerung der Kombinationen auf Grund verschiedener Angriffspunkte der natürlichen und künstlichen Östrogene, mußten andere Erklärungsmöglichkeiten erwogen werden. Vor allem war an den zeitlichen Faktor zu denken. Die Grunddosen an Östron in den einzelnen Kombinationen (0,1—0,4 γ) sind an sich ja hoch genug, um einen Östrus hervorzurufen, wenn man sie nicht, wie es in unseren Versuchen geschah, subcutan anwendet, sondern lokal an der Vaginalschleimhaut appliziert: Bei der schnellen und relativ verlustarmen lokalen Resorption wird die für den Östrus notwendige Konzentration in der Vaginalschleimhaut bei sehr geringen Gesamtdosen erreicht (Voss, 1937), während die langsame Resorption aus dem subcutanen Depot es bei den geringen Dosen niemals zur notwendigen Östronkonzentration in der Scheidenschleimhaut kommen läßt. Es wäre nun denkbar, daß die zu den geringen Östrondosen zusätzlich verabreichten, ebenfalls unterschwelligen Dosen der drei anderen östrogenen Stoffe, rascher resorbiert würden, auf diese Weise konzentrierter zur Wirkung gelangten als das Östron selbst und zu einer zeitweiligen Erhöhung des Gesamt-Östrogenspiegels in den Gewebssäften der Vaginalschleimhaut führten. Unter solchen Umständen könnte es zu einer Abkürzung der Latenzzeit des Östruseintritts (vgl. Voss, 1936) bei der östrogenen Wirkung der Kombination kommen. Eine darauf gerichtete Untersuchung zeigte, daß bei

* Bei der zeitlichen Begrenzung der hyperämisierenden Wirkung des Yohimbins könnte man daran denken, daß die erzielte Blutfülle nicht stetig genug war, obgleich wir versuchten, durch eine entsprechende Aufteilung der Injektionen der wässerigen Yohimbinlösung sie möglichst gleichmäßig zu gestalten.

der reinen Östronbehandlung der Östrus die Tendenz hat, später einzutreten als bei der Behandlung mit reinem Östradiol, Diäthylstilböstrol oder Oxyphenyl-hexandiol-dipropionat (Abb. 1a—d). Zwar liegt das Maximum des Östrusbeginns bei allen 4 Stoffen beim Termin von 69 Std., aber während beim Östron 22 % aller Östren erst zum Termin von 77 oder 93 Std. eintreten, fehlen diese späten Termine bei den drei anderen Substanzen fast vollkommen; statt dessen spielen bei ihnen die früheren, vor 69 Std. liegenden Termine eine entsprechende größere Rolle. Faßt man nun alle in den Kombinationsversuchen beobachteten Östren zusammen (Abb. 1, e), so sieht man, daß im wesentlichen der Östrontypus der zeitlichen Verteilung des Östruseintritts erhalten geblieben ist: Das Maximum (65 %) liegt, wie immer, bei 69 Std.; daneben haben wir 19 % verspätete Östren bei 77 und 93 Std. und eine gewisse Zunahme der frühen Östren (von 6 %

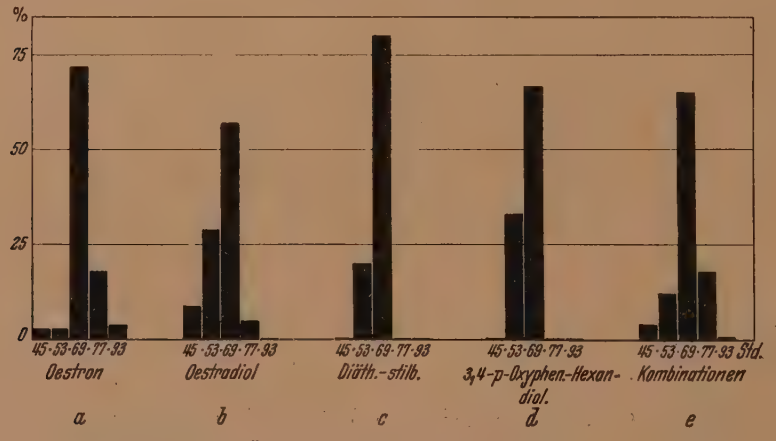


Abb. 1. Verteilungskurve des Östruseintritts. Abszisse: Stunden nach der ersten Injektion. Ordinate: Prozentzahl der östrischen Ratten.

beim Östron auf 16 % bei den Kombinationen). Daß man aus dieser (übrigens hauptsächlich auf Kosten der Oxyphenyl-hexandiol-Kombination zu setzenden) Vorverlegung des Östrus in einer immerhin nicht großen Zahl von Fällen auf eine ausschlaggebende Bedeutung des zeitlichen Faktors für die Wirkungssteigerung der Kombinationen schließen dürfte, erscheint unwahrscheinlich.

Es wäre aber möglich, daß die raschere Resorption des Östradiols und der beiden synthetischen Östrogene, auf die man aus dem im allgemeinen gegenüber dem Östron verfrühten Östruseintritt schließen kann (vgl. Abb. 1a—d), sich insofern auswirkt, als sie die Vaginalschleimhaut für die später einsetzende Wirkung des Östrons sensibilisieren könnte, so daß schon geringere Gesamtdosen der östrogenen Stoffe als 1 RE. dennoch in einer gesteigerten Zahl von Fällen eine Vollwirkung hervorrufen. Es

würde sich, wenn das zutrifft, bei der Wirkungssteigerung der östrogenen Stoffe durch Kombination zwar immer noch um ein Zusammenwirken der Komponenten handeln, aber vornehmlich um ein zeitliches Nacheinander und nicht ein Nebeneinander der Wirkungen.

Auch aus der Dauer des Östrus ließ sich kein Hinweis auf die bei der Wirkungssteigerung der Kombinationen maßgebenden Faktoren entnehmen: Sowohl beim Östron als auch beim Östradiol, wie auch bei den beiden synthetischen Östrogenen schwankte die Dauer des reinen Stadiums der verhornten Zellen zwischen einem und zwei Tagen (im Dosenbereich bis zu 1 RE., bei höheren Dosierungen kann die Dauer natürlich bei allen 4 Substanzen beträchtlich verlängert sein); bei den Kombinationen des Östrons mit einem der drei anderen Stoffe im Bereich zwischen 13/36 und 34/36 RE. lagen die Schwankungen im gleichen Raum wie bei den Reinsubstanzen. Die durchschnittliche Östruslänge geht aus der Tabelle 3 hervor:

Tabelle 3.

Substanz	Zahl der beobachteten Östren	Durchschnittliche Östrusdauer in Tagen
Östron	78	1,3
Östradiol	49*	1,4
Diäthylstilböstrol	52*	1,7
3, 4-p-Oxyphenyl-hexandiol-dipropionat	51*	1,2
Östron + Östradiol	83	1,5
„ + Diäthylstilböstrol	45	1,2
„ + 3, 4-p-Oxyphenyl-hexandiol-dipropionat	64	1,3

* In diesen Zahlen sind auch Östren berücksichtigt, die außerhalb der vorliegenden Kombinationsversuche beobachtet wurden.

Wie man aus der Tabelle ersieht, liegen die Schwankungen der durchschnittlichen Östrusdauer bei den 4 Reinsubstanzen und bei ihren Kombinationen so nahe beieinander, daß man von einer Beeinflussung der Östrusdauer in der einen oder anderen Richtung nicht sprechen kann**.

Keiner der erörterten und experimentell nachgeprüften Versuche, die beobachtete Wirkungssteigerung der Kombination verschiedener östrogener Stoffe zu erklären, hat zu einem befriedigenden Ergebnis geführt. Es war geplant, die Kombinationsversuche weiter auszubauen, indem man als Grundsubstanz nicht, wie in den bisherigen Versuchen, das Östron, sondern die anderen Wirkstoffe wählte und sie nun mit Östron und den übrigen Kombinationspartnern paarte: Man hätte auf diese Weise (unter anderen) Kombinationen erhalten, in denen die Gesamtwertigkeit gleich gewesen wäre, die Anteile der beiden Komponenten sich aber reziprok verhalten

** Unsere Beobachtungen über Östruseintritt und Östrusdauer sind nicht geeignet, die These von Stasiak und Farkas (1940), daß diese beiden Größen für die verschiedenen östrogenen Substanzen kennzeichnend wären, zu unterstützen, wie hier nur nebenbei bemerkt sei.

hätten, und hätte aus der gleichen oder verschiedenen Wirkung dieser reziproken Kombinationen vielleicht weitere Aufklärung der Frage des Wirkungsmechanismus der östrogenen Stoffe schöpfen können. Leider war aber unter den jetzigen Umständen an eine Fortsetzung der Versuche nicht zu denken, da gegenwärtig weder das Tiermaterial noch die Fütterungsmöglichkeiten die notwendige Garantie für die Gleichmäßigkeit der Versuchsbedingungen zu geben vermögen. Trotz des Fehlens des notwendigen Ausbaues der Kombinationsversuche auf breiter Grundlage sollte aber auf die bisherigen Beobachtungen hingewiesen werden, die vielleicht auch klinisch von Bedeutung sein könnten.

Zusammenfassung.

Die Frage einer Kombination östrogener Wirkstoffe [Östron (Perlatan), Östradiol, Diäthylstilböstrol, 3, 4-p-Oxyphenyl-hexandiol-dipropionat] wird untersucht und im Allen-Doisy-Test eine Verstärkung der Wirkung gefunden. Den Ursachen dieser Wirkungssteigerung wird experimentell nachgegangen.

Literatur.

Bayer, R.: Münch. med. Wschr. **1943**. S. 193. — Emmens, C. W., u. R. I. Ludford: Nature (Brit.) **1940**, S. 746. — Hechter, O., M. Lev u. S. Soskin: Endocrinology (Am.) **26**, 73 (1940). — Koll, W., u. H. Nocken: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 340 (1939). — Mossini, A.: Boll. Soc. ital. Biol. sper. **15**, 1170 (1940). — Stasiak, A., u. E. Farkas: Arch. Pharmaz. **1940**, S. 176. — Tamburello, G.: Ann. Fac. Med. Perugia **35**, 72 (1936). — Voss, H. E.: Klin. Wschr. **1936**, S. 633. — Voss, H. E.: Ebenda **1937**, S. 769. — Voss, H. E.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 570 (1939).

Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für medizinische Forschung, Heidelberg, Institut für Pathologie. (Stellvertr. Direktor: Prof. Dr. R. Kuhn.)

Über Antagonisten der Phlorrhizinwirkung.

I. Mitteilung.

Von

K. H. Pfeffer und R. Wetzel.

(Eingegangen am 23. Mai 1943.)

In Verfolg der Arbeiten des einen von uns[1] über die Wirkung des Phlorrhizins auf die Zellatmung fanden Mitteilungen von Frouin[2] und Hoff[3] unser besonderes Interesse, in denen über eine antagonistische Wirkung von Methylenblau und Laktoflavin auf die durch Phlorrhizin bewirkte Zuckerausscheidung berichtet wurde.

Nach unseren bisherigen Untersuchungen war eine doppelte Wirkung des Phlorrhizins anzunehmen, eine spezifische, die Verbrennung der KH hemmende, und eine unspezifische, von der angenommen wurde, daß sie in Vorgänge eingreift, die an die Weitergabe des Wasserstoffs an das terminale Atmungssystem der Zelle geknüpft sind. Eine antagonistische Wirkung der erwähnten Atmungskatalysatoren hätte diese Annahme weiter stützen können, insofern, als die Atmungshemmung, für die eine partielle Blockierung der natürlichen Zwischenacceptoren der Zelle anzunehmen war, infolge der Übernahme von H_2 durch Methylenblau oder Lactoflavin wieder hätte beseitigt werden können.

Unsere Aufgabe bestand zunächst darin, die Ergebnisse der Untersuchungen von Frouin und Hoff am Gesamttier zu überprüfen. Dabei wurde der Frage der subcutanen und oralen Wirksamkeit des Phlorrhizins besondere Beachtung geschenkt. In einer weiteren Untersuchung (II. Mitteilung) wird die Wirkung von Methylenblau und Lactoflavin auf die phlorrhizinvergiftete Atmung von Leberschnitten beschrieben.

Methodik.

1. Versuche an Ratten.

Es wurden weiße Ratten aus eigener Zucht von 200—300 g Gewicht verwandt, die, wie früher angegeben[4], in einer Vorperiode von 3—4 Wochen gleichmäßig ernährt und einer regelmäßigen Gewichtskontrolle unterworfen wurden. Während der beiden letzten Tage — in einigen Fällen

[1] Wetzel, R., u. C. Meadows: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 192 (1937). — [2] Frouin: C. r. Soc. Biol. **62**, 411 (1907). — [3] Hoff, W.: Klin. Wschr. **1938**, II, S. 1535. — [4] Wetzel, R., H. Wollschitt, H. Ruska, Th. Oestreicher: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 86 (1935).

während der letzten 3 Tage — hungerten die Tiere in Käfigen, die mit einer Vorrichtung zum Auffangen des Harns versehen waren und erhielten täglich 0,05—0,2 mg Phlorrhizin pro kg Körpergewicht subcutan injiziert. Einer zweiten Serie von möglichst gewichtsgleichen Tieren wurde außerdem 1 bis 4 mg Methylenblau (jeweils das 50fache der Phlorrhizindosis) bzw. 2 mg Lactoflavin* injiziert. Um die Löslichkeit des Phlorrhizins in Wasser zu verbessern, wurde dieses mit gleichen Teilen Natrium-desoxydehydrocholat versetzt, so daß wir mit relativ geringen Injektionsmengen auskamen. Die Phlorrhizinwirkung auf die Zuckerausscheidung wurde durch diesen Zusatz, wie wir in Kontrollversuchen feststellten, nicht beeinflußt. Im Gesamttagesharn wurde der ausgeschiedene Zucker polarimetrisch bestimmt. Ein kleiner Fehler, der durch die Ausscheidung von linksdrehender Phlorrhizinglucuronsäure entsteht, wurde dabei in Kauf genommen.

2. Versuche an Hunden.

Zu den Versuchen wurden 8 Hunde von 6,6—8 kg Gewicht verwandt. An den Tieren wurde jeweils eine Versuchsreihe von 3—4 Hungertagen mit Phlorrhizin allein bzw. mit Phlorrhizin und Lactoflavin durchgeführt. Zwischen beiden Versuchsreihen lag ein Zwischenraum von mehreren Wochen, in denen der durch den ersten Versuch erlittene Gewichtsverlust wieder aufgeholt worden war. Die Tiere bekamen während des Versuchs reichlich zu trinken und wurden in Käfigen gehalten, in denen der Harn quantitativ gesammelt wurde. Der Zuckergehalt wurde ebenfalls polarimetrisch bestimmt.

Ergebnisse.

1. Versuche an Ratten.

a) Methylenblauversuche.

Es wurden drei Versuchsreihen durchgeführt. In der ersten wurden täglich 0,2 g Phlorrhizin pro kg Körpergewicht an drei aufeinanderfolgenden Tagen gespritzt, in der zweiten nur eine Menge von 0,1 g, da bei den höheren Dosen in zwei Fällen am 2.—3. Tag der Tod eintrat, in der dritten dieselbe Dosierung auf einen Zeitraum von 2 Tagen beschränkt. Die Methylenblaumenge betrug in beiden Versuchsreihen jeweils das 50fache der Phlorrhizingabe.

Wie aus den in Tabelle 1—3 mitgeteilten Werten hervorgeht, war die Zuckerausscheidung bei den Phlorrhizintieren in den drei Versuchsreihen etwa die gleiche. Die Einzelwerte schwankten zum Teil erheblich (von 0,47—1,89 g). Ungünstig wirkten sich hierbei die teilweise sehr unterschied-

* Herrn Prof. Dr. R. Kuhn und Herrn Dr. L. Birkofer sind wir für die Überlassung des Präparates zu großem Dank verpflichtet.

lichen Tiergewichte aus, so daß wir, um eine bessere Vergleichsmöglichkeit zu haben, die Zuckerausscheidung pro kg Tier berechneten.

Die mit Phlorrhizin und Methylenblau gespritzten Tiere zeigten im Gegensatz zu den Befunden von Frouin keine Herabsetzung der Zuckerausscheidung. Auch eine Verminderung der Harnmenge war nicht zu beobachten. Der Harn der Tiere war bläulichgrün verfärbt. Nur bei einer

Tabelle 1 (Versuche an Ratten).

Harnmenge und Zuckerausscheidung nach Injektion von Phorrhizin allein (0,2 g/kg an 3 Tagen) und von Phlorrhizin in derselben Dosierung mit Methylenblau (0,004 g/kg).

Tier Nr.	Gewicht in g	Art der Vorbehandlung	Harnmenge	Zuckerausscheidung %	Zuckerausscheidung g	Zuckerausscheidung pro kg Körpergewicht	Bemerkungen
1028	320	Phlorrhizin	2,0	23,5	0,47	1,5	Am 2. Tage †
1029	341	„	16,6	11,4	1,89	5,5	
1046	184	„	24,0	3,8	0,92	5,0	
1047	186	„	28,1	2,9	0,82	4,4	
1062	185	„	9,0	8,9	0,80	4,3	
1069	186	„	14,4	7,2	1,01	5,4	
Mittelwerte:		Phlorrhizin		9,6	0,99	4,3	
1022	304	Phlorrhizin und Methylenblau	4,5	12,0	0,54	1,8	Am 2. Tage †
1039	297	Dasselbe	22,5	9,0	2,00	6,8	
1061	190	„	8,8	9,1	0,80	4,2	
1063	220	„	20,0	6,6	1,25	5,7	
1066	200	„	18,5	4,5	0,84	4,2	
Mittelwerte:		Phlorrhizin und Methylenblau		8,2	1,09	4,5	

Tabelle 2 (Versuche an Ratten).

Harnmenge und Zuckerausscheidung nach Injektion von Phlorrhizin allein (0,1 g/kg an 3 Tagen) und von Phlorrhizin in derselben Dosierung mit Methylenblau (0,004 g/kg).

Tier Nr.	Gewicht in g	Art der Vorbehandlung	Harnmenge	Zuckerausscheidung %	Zuckerausscheidung g	Zuckerausscheidung pro kg Körpergewicht
2	341	Phlorrhizin	41,0	3,9	1,60	4,7
3	350	„	34,3	3,8	1,31	3,7
1065	180	„	22,4	9,0	2,01	11,2
Mittelwerte:		Phlorrhizin		5,6	1,64	6,5
1	325	Phlorrhizin und Methylenblau	59,8	3,8	2,24	6,9
1038	310	„ „ „	31,0	8,9	2,75	8,9
1041	360	„ „ „	61,6	5,7	3,50	9,7
1062	200	„ „ „	16,7	8,8	1,46	7,3
1064	200	„ „ „	25,0	5,9	1,47	7,4
Mittelwerte:		Phlorrhizin und Methylenblau		6,6	2,28	8,0

Tabelle 3 (Versuche an Ratten).

Harnmenge und Zuckerausscheidung nach Injektion von Phlorrhizin allein (0,1 g/kg an 2 Tagen) und von Phlorrhizin in derselben Dosierung mit Methylenblau (0,004 g/kg).

Tier Nr.	Gewicht in g	Art der Injektion	Harnmenge	Zuckerausscheidung		
				%	g	pro kg Körpergewicht
2	341	Phlorrhizin	28,9	4,1	1,18	3,4
3	350	„	31,8	4,1	1,31	3,7
960	254	„	26,9	2,1	0,54	2,1
1063	230	„	10,9	6,2	0,67	2,9
1065	180	„	16,9	7,6	1,28	7,1
1078	190	„	12,2	7,5	0,91	4,8
1079	170	„	13,3	5,0	0,60	3,9
Mittelwerte:		Phlorrhizin allein		5,3	0,94	4,0
1	325	Phlorrhizin und Methylenblau	47,0	4,1	1,93	5,9
1038	310	„ „ „	21,3	9,0	1,93	6,2
1041	360	„ „ „	41,1	6,9	2,86	8,1
1062	200	„ „ „	12,7	9,0	1,15	5,7
1064	200	„ „ „	15,8	6,6	1,04	5,2
1080	180	„ „ „	16,8	2,0	0,33	1,8
1082	210	„ „ „	16,3	6,4	1,04	5,0
1083	205	„ „ „	11,5	8,5	0,98	4,8
Mittelwerte:		Phlorrhizin und Methylenblau		6,3	1,40	5,3

Ratte (Nr. 1080) fiel auf, daß der Harn trotz zweimaliger Methylenblauinjektion normal gefärbt war. Die Zuckerausscheidung war auffallend gering (0,33 g). Offenbar war hier eine Reduktion des Methylenblaus eingetreten, die zu einer partiellen Aufhebung der Phlorrhizinwirkung in dem von uns vermuteten Sinne geführt hatte. Warum es nur in dem einen Fall zu einer Herabsetzung der Zuckerausscheidung unter der Methylenblauwirkung kam, in den anderen Fällen aber nicht, vermögen wir nicht zu erklären. Da mit der Verringerung der Zuckerausscheidung gleichzeitig eine Reduktion des Methylenblaues stattgefunden hatte, könnte man in dieser die Voraussetzung für eine Hemmung der Phlorrhizinwirkung erblicken. Diese würde also nur dann eintreten, wenn es durch Bedingungen, die wir noch nicht kennen, zu einer Reduktion des Methylenblaues intra vitam kommt.

b) Lactoflavinversuche.

Es wurden zwei Versuchsreihen durchgeführt. Bei der ersten wurde Phlorrhizin und Lactoflavin gleichzeitig, bei der zweiten das Lactoflavin nach dem Injektionsmodus von Hoff jeweils 1 Stunde vor dem Phlorrhizin gespritzt.

Auch mit Lactoflavin ließ sich keine eindeutige Hemmung der Phlorrhizinwirkung hervorrufen. Bei einem Tier (Nr. 1073) fand sich zwar auch eine deutlich herabgesetzte Zuckerausscheidung, die sich aber teilweise durch das gegenüber den Kontrolltieren geringere Körpergewicht erklärt.

Tabelle 4 (Versuche an Ratten).

Harnmenge und Zuckerausscheidung nach Injektion von Phlorrhizin (0,05 g/kg an 3 Tagen) und von Phlorrhizin in derselben Dosierung mit Lactoflavin (4 mg an 3 Tagen).

Tier Nr.	Gewicht in g	Art der Injektion	Harnmenge	Zuckerausscheidung		
				%	g	pro kg Körpergewicht
1061	180	Phlorrhizin	17,8	4,1	0,73	4,1
1065	200	„	15,0	5,1	0.76	3,8
1070	204	„	20,3	5,1	1,02	5,0
1072	198	„	21,5	4,9	1,04	5,3
Mittelwerte:		Phlorrhizin allein		4,8	0,89	4,5
1073	171	Phlorrhizin und Lactoflavin	11,3	3,9	0,44	2,6
1074	180	„ „ „	13,0	4,9	0,64	3,6
1075	180	„ „ „	12,4	6,2	0,77	4,3
Mittelwerte:		Phlorrhizin und Lactoflavin		5,0	0,61	3,5

Tabelle 5 (Versuche an Ratten).

Harnmenge und Zuckerausscheidung nach Injektion von Phlorrhizin (0,1 g/kg am 1. Tag) und von Phlorrhizin in derselben Dosierung mit Lactoflavin (4 mg 1 Std. vor der Phlorrhizininjektion).

Tier Nr.	Gewicht in g	Art der Injektion	Harnmenge	Zuckerausscheidung		
				%	g	pro kg Körpergewicht
1069	208	Phlorrhizin	10,2	4,7	0,48	2,3
1075	196	„	4,6	7,0	0,32	1,7
Mittelwerte:		Phlorrhizin allein			0,40	2,0
1070	223	Phlorrhizin und Lactoflavin	5,4	7,2	0,39	1,7
1072	208	„ „ „	8,5	6,3	0,50	2,4
1073	180	„ „ „	9,3	4,3	0,40	2,2
Mittelwerte:		Phlorrhizin und Lactoflavin			0,43	2,1

2. Versuche an Hunden.

In der ersten Versuchsreihe untersuchten wir die Wirkung von Lactoflavin auf Hunde, denen nach 48 stündigem Hunger 0,3 g Phlorrhizin injiziert wurde. Die unter der Wirkung des Phlorrhizins auftretende Zuckerausscheidung wurde über 2—3 Tage verfolgt. Zu jedem Versuch wurden jeweils 2 Hunde verwandt, von denen der eine nach weiteren 24 Stunden 1 mg Lactoflavin injiziert bekam. Die Versuche wurden so vorgenommen, daß jeder Hund, sowohl mit Phlorrhizin allein, als auch kombiniert mit Phlorrhizin und Lactoflavin gespritzt wurde, um einen Vergleich bei ein und demselben Tier zu haben.

Wie aus den in Tabelle 6 mitgeteilten Werten hervorgeht, waren keine Unterschiede in der Zuckerausscheidung zwischen den mit Phlorrhizin allein und den mit Phlorrhizin und Lactoflavin gespritzten Hunden fest-

Tabelle 6 (Versuche an Hunden).
Harnmengen und Zuckerausscheidung nach Injektion von Phlorrhizin.

Nr.	Gewicht in kg	Tag	Urinmenge	Zucker in %	Zucker in g	Bemerkungen
5	6,8	1.	63	8,8	5,5	Nach 48stünd. Hunger Injektion von
		2.	370	1,4	5,2	0,3 g Phlorrhizin in Olivenöl gelöst
		3.	110	3,7	4,1	
Gesamtausscheidung:			543		14,8	
9	5,9	1.	143	4,5	6,4	Nach 48stünd. Hunger Injektion von
		2.	255	4,0	10,2	0,3 g Phlorrhizin in Olivenöl
Gesamtausscheidung:			398		16,6	
4	8,7	1.	153	5,5	8,4	Nach 24stünd. Hunger Injektion von
		2.	304	1,7	5,2	0,3 g Phlorrhizin in Wasser gelöst
Gesamtausscheidung:			457		13,6	
9	6,6	1.	71	5,0	3,6	Wie oben
		2.	156	5,3	8,3	
		3.	165	4,8	7,9	
Gesamtausscheidung:			392		19,8	
8	7,0	1.	247	3,3	8,1	Wie oben
		2.	543	1,7	9,3	
Gesamtausscheidung:			790		17,4	
3	8,4	1. u. 2.	730	3,5	25,5	Wie oben
		3.	410	2,2	9,2	
Gesamtausscheidung:			1140		34,7	
4	7,7	1.	545	1,0	5,5	Wie oben. Harn war stark getrübt
		2.	655	0,55	3,6	und enthielt massenhaft Colibazillen
		3.	330	1,0	3,3	
Gesamtausscheidung:			1530		12,4	
5	7,8	1.	138	1,4	6,1	Wie oben
		2.	162	6,4	10,4	
		3.	420	5,0	21,2	
Gesamtausscheidung:			720		37,7	
9	6,6	1.	416	1,4	5,8	Wie oben
		2.	653	1,7	11,1	
		3.	352	1,6	5,8	
Gesamtausscheidung:			1421		22,7	

zustellen. Auch eine zweimalige Injektion von Lactoflavin nach dem Vorgehen von Hoff ein halbe Stunde vor und 1 Stunde nach der Phlorrhizininjektion brachte kein anderes Ergebnis. Nur bei einem Tier (Nr. 4) wurde nach Lactoflavin eine auffallend geringe Zuckerausscheidung gefunden, die aber auch schon in dem Kontrollversuch ohne Lactoflavin beobachtet worden war. Wie die Untersuchung des Harns ergab, lag bei diesem Tier eine erhebliche Harngärung vor, die zu einem teilweisen Umsatz des im Harn ausgeschiedenen Zuckers geführt hatte, wodurch eine geringere Aus-

Tabelle 7 (Versuche an Hunden).
Harnmengen und Zuckerausscheidung nach Injektion von Phlorrhizin und Lactoflavin.

Nr.	Gewicht in kg	Tag	Urinmenge	Zucker in %	Zucker in g	Bemerkungen
6	6,8	1.	150	5,0	7,5	Nach 48stünd. Hunger Injektion von 0,3 g Phlorrhizin in Öl gelöst. Nach weiteren 24 Std. Injektion von 1 mg Lactoflavinphosphorsäure, Phlorrhizininjektion wie oben. Nach 24 und 30 Std. Injektion von je 1 mg Lactoflavinphosphorsäure
		2.	520	1,4	7,3	
		3.	290	1,6	4,6	
Gesamtausscheidung:			960		19,4	
8	5,9	1.	224	3,0	6,7	
		2.	325	1,9	6,2	
Gesamtausscheidung:			549		12,9	
3	9,1	1.	305	5,0	15,3	Nach 24stünd. Hunger Injektion von 0,3 g Phlorrhizin in H_2O gelöst. 1 Std. vor und 1 Std. nach der Phlorrhizininjektion 1 mg Lactoflavin
		2.	207	4,4	9,1	
Gesamtausscheidung:			512		24,4	
5	7,2	1.	107	5,4	5,8	Wie oben
		2.	453	3,8	17,2	
		3.	165	2,5	4,1	
Gesamtausscheidung:			725		27,1	
7	8,3	1.	190	5,4	10,3	Wie oben
		2.	335	4,2	14,1	
Gesamtausscheidung:			525		24,4	
4	8,0	1. u. 2.	174	1,2	2,1	Wie oben. Harn war stark getrübt und enthielt massenhaft Colibazillen
		3.	81	3,2	2,6	
Gesamtausscheidung:			255		4,7	
8	7,8	1.	345	3,6	12,4	
		2.	400	2,4	9,4	
		3.	260	2,9	7,5	
Gesamtausscheidung:			1005		29,3	
9		1.	300	3,0	9,0	
		2.	323	3,5	11,3	
		3.	740	1,4	10,7	
Gesamtausscheidung:			1363		31,0	

scheidung vorgetäuscht wurde. In Tabelle 8 sind die Mittelwerte aus sämtlichen Injektionsversuchen zusammengestellt, aus denen eindeutig hervorgeht, daß die Zuckerausscheidung in den beiden Versuchsreihen mit und ohne Lactoflavin innerhalb der Fehlergrenzen die gleiche ist.

Es war somit erwiesen, daß das Lactoflavin in die Stoffwechselprozesse, die unter der Phlorrhizinwirkung zustande kommen und die nach der Auffassung Lundsgaards[5] in einer Hemmung der Rückresorption der Glucose

[5] Lundsgaard, E.: Skand. Arch. Physiol. (D.) 72, 265 (1935).

Tabelle 8 (Versuche an Hunden).
Mittelwerte aus sämtlichen Injektionsversuchen.

Versuchszeit nach der Injektion von Phlorrhizin	Phlorrhizin		Phlorrhizin und Lactoflavin	
	Harnmenge	Zucker in g	Harnmenge	Zucker in g
1. Tag	200	7,1	232	9,6
2. Tag	351	9,1	366	10,7
3. Tag	291	9,6	364	6,7
Gesamt	842	25,8	962	27,0
Mittelwerte aus sämtlichen Fütterungsversuchen.				
1. Tag	387	10,2	340	10,1
2. Tag	203	1,6	378	9,4
3. Tag	204	1,4	300	2,8
Gesamt	794	13,2	1018	22,3

in den geraden Harnkanälchen zu suchen ist, nicht einzugreifen vermag. Da die eingangs erwähnten Versuche von Hoff, die zu einem anderen Ergebnis geführt hatten, mit verfüttertem Phlorrhizin ausgeführt worden waren, mußte man sich noch fragen, ob das Lactoflavin in die mit der Resorption des Phlorrhizins verknüpften Vorgänge hemmend eingreift. Aus diesem Grunde haben wir noch einige Fütterungsversuche mit Phlorrhizin ausgeführt, bei denen wir uns an die Arbeitsweise von Hoff hielten. Bei diesen Versuchen hatten wir erhebliche Schwierigkeiten, ein Erbrechen des mit der Schlundsonde eingegebenen Phlorrhizins zu verhindern. Aber selbst wenn ein Erbrechen nicht eintrat, kam es fast immer zu Durchfällen, bei denen wechselnde Mengen von Phlorrhizin mit dem Kot ausgeschieden wurden. Wir fanden daher erheblich größere Schwankungen der Zuckerausscheidung als in den Injektionsversuchen, die wir auf die schwankenden Resorptionsverhältnisse zurückführten. Wir verzichten daher auf eine tabellarische Wiedergabe der Einzelwerte. Die Tabelle 9 enthält die Mittelwerte aus den besten Einzeluntersuchungen, aus denen ebenfalls hervorgeht, daß das Lactoflavin die Phlorrhizinglucosurie nicht zu beeinflussen vermag. Die Harnzuckerwerte bei den mit Lactoflavin gespritzten Tieren lagen durchschnittlich sogar etwas höher als bei den Kontrolltieren.

In einigen Versuchen wurde an Stelle von Lactoflavin Lactoflavinphosphorsäure verwandt, da nach den Untersuchungen von Verzar und Laszt[6] durch Phlorrhizin auch die Phosphorylierung des Lactoflavins gehemmt werden soll. Auch diese Versuche zeigten kein anderes Ergebnis. Ebensowenig gelang es durch Nebennierenrindenhormon, das nach Verzar für die Phosphorylierung des Lactoflavins notwendig ist, eine Verringerung der Zuckerausscheidung zu erzielen.

[6] Verzar u. Laszt: Pflügers Arch. **236**, 693 (1935); **237**, 136 (1936); **239**, 136 (1938).

Wir haben ferner versucht, die Ausscheidung des Phlorrhizins im Harn quantitativ zu bestimmen. Von Schüller[7] wurde nachgewiesen, daß der größte Teil von subcutan und oral eingegebenem Phlorrhizin als Phlorrhizinglucuronsäure ausgeschieden wird. Er konnte ferner zeigen, daß die Phlorrhizinglucuronsäure nur noch eine schwache glucosurische Wirkung auszuüben vermag. Die Paarung an Glucuronsäure bringt also eine Entgiftung mit sich. Wir haben uns daher gefragt, inwieweit in der von Hoff beschriebenen Abschwächung der Phlorrhizinwirkung durch Lactoflavin eine vermehrte Überführung in Phlorrhizinglucuronsäure zugrunde liegen kann. Zu diesem Zweck führten wir quantitative Glucuronsäurebestimmungen nach der Methode von van der Haar[8] aus. Dabei zeigte sich, daß die Glucuronsäurewerte im Harn von phlorrhizinvergifteten Hunden auf das 6—20fache des Normalwertes im Harn anstiegen und daß eine gewisse Parallelität zu der Größe der Zuckerausscheidung bestand. Ein Unterschied zwischen den ohne und mit Lactoflavin gespritzten Tieren war aber nicht festzustellen, so daß wir auf eine tabellarische Wiedergabe der Versuchswerte verzichten.

Das Ergebnis unserer Untersuchungen läßt sich also dahin zusammenfassen, daß eine sichere antagonistische Wirkung von Methylenblau und Lactoflavin bzw. Lactoflavinphosphorsäure auf die durch Phlorrhizin bewirkte Zuckerausscheidung, die auf Grund der Arbeiten von Frouin und Hoff anzunehmen war, bei unseren Versuchsbedingungen nicht nachzuweisen war. Die von Verzar bei der Resorption der Glucose aus dem Darm festgestellte Wirkung der Lactoflavinphosphorsäure und des Nebennierenrindenhormons hat anscheinend keine Bedeutung für die Rückresorption der Glucose aus den geraden Harnkanälchen. Damit entfallen aber auch die Überlegungen, die Rühl und Thaddea[9] auf Grund der Verzarschen Theorie veranlaßten, die Glykosurie beim renalen Diabetes mit Nebennierenrindenhormon zu behandeln. In Übereinstimmung mit unseren Versuchen und entgegen der Angaben von Rühl und Thaddea, die in zwei Fällen von renalem Diabetes eine Herabsetzung der Zuckerausscheidung durch Nebennierenrindenhormon fanden, stehen die Untersuchungen von Robbers und Westenhoeffer[10], die weder beim renalen Diabetes, noch bei der Phlorrhizin-Glucosurie des Menschen einen Einfluß von Lactoflavin, Lactoflavinphosphorsäure und Nebennierenrindenhormon sahen.

---

[7] Schüller, J.: Z. Biol. **56**, 274 (1911). — [8] van der Haar: Berlin, 1920. — [9] Rühl u. Thaddea: Dtsch. Arch. klin. Med. **182**, 1 (1938). — [10] Robbers, H., u. D. Westenhoeffer: Klin. Wschr. **1939**, II, S. 927.

Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für medizinische Forschung Heidelberg, Institut für Pathologie. (Stellvertr. Direktor: Prof. Dr. R. Kuhn.)

Über Antagonisten der Phlorrhizinwirkung.

II. Mitteilung:

Von

K. H. Pfeffer und **R. Wetzel.**

(Eingegangen am 23. Mai 1943.)

Die schwer zu übersehenden Verhältnisse der Phlorrhizinwirkung am Gesamttier, die keine antagonistische Beeinflussung durch Methylenblau und Lactoflavin erkennen ließen[1], veranlaßten uns, Versuche mit derselben Fragestellung auch am isolierten Gewebe anzustellen. Wie der eine von uns früher zeigen konnte, wirkt Phlorrhizin hemmend auf die Zellatmung, und zwar vorwiegend auf die Verbrennung der Kohlehydrate. Nach den Befunden von Frouin[2] und Hoff[3] konnte man an phlorrhizinvergifteten Gewebsschnitten durch Methylenblau und Lactoflavin eine Steigerung der Atmung und der KH-Verbrennung erwarten. Leider waren Versuche mit Methylenblau und Phlorrhizin nicht durchführbar, da beide Substanzen sich in ihrer Löslichkeit in Phosphatringer ungünstig beeinflußten, so daß es zu einer Ausfällung des Methylenblaus bzw. des Phlorrhizins kam. Wir mußten uns daher auf Versuche mit Lactoflavin allein beschränken.

Nach den Untersuchungen von Th. Wagner-Jauregg und Mitarb.[4] ist es wahrscheinlich, daß Lactoflavin ähnlich wie Methylenblau, wenn auch schwächer als dieses, als biologischer Wasserstoffüberträger wirken kann. Es nimmt dabei den durch Fermente aktivierten Wasserstoff gewisser Substrate auf, wobei es in seine Leukoform übergeht, die mit dem Luftsauerstoff wieder unter Rückbildung von Flavin zu reagieren vermag. Als Substrate der Lactoflavinwirkung erwiesen sich vor allem Abbaustufen des anoxybiontischen KH-Stoffwechsels, wie Bernsteinsäure, Glycerinphosphorsäure, Glycerinaldehydphosphorsäure und Aldehyde wirksam.

Untersuchungen über die Beeinflussung der Gewebeatmung liegen nur vereinzelt vor. Von Brookens[5] wurde durch Ovoflavin (= Lactoflavin) keine Steigerung der Atmung kernloser Erythrocyten gefunden. Fleischmann und Pichler[6] untersuchten die Wirkung von Lactoflavin auf die Atmung von Rattenhirnschnitten und fanden ebenfalls keine Beeinflussung

---

[1] Siehe die vorangehende Arbeit. — [2] Frouin: C. r. Soc. Biol. **62**, 411 (1907). — [3] Hoff: Klin. Wschr. **1938**, II, S. 1535. — [4] Wagner-Jauregg, Th., u. H. Ruska: Ber. dtsch. chem. Ges. **66**, 1298 (1933); Wagner-Jauregg, Th., H. Rauen u. E. F. Möller: Hoppe Seylers Z. **224**, 67 (1934). — [5] Brookens: Zitiert nach Th. Wagner-Jauregg u. H. Ruska: l. c. — [6] Fleischmann u. Pichler: Klin Wschr. **1938**, S. 314.

der normalen Atmung, wohl aber eine erhebliche Steigerung der Restatmung nach Blausäurevergiftung. Wir führten daher unsere Versuche so durch, daß wir in der gleichen Versuchsreihe die Wirkung von Lactoflavin auf normale und phlorrhizinvergiftete Rattenleberschnitte prüften.

Methodik.

Als Versuchstiere dienten weiße, männliche Ratten von 150—200 g Gewicht aus eigener Zucht, die 2—3 Wochen vor dem Versuch mit einer gleichmäßigen Kuchennahrung ernährt* und einer zweiwöchentlichen Gewichtskontrolle unterworfen wurden. 3 Tage vor dem Versuch erhielten die Tiere Milchreis und Zucker, um eine Anreicherung der Leber mit Glykogen zu erzielen. Vor der Tötung, die in der Regel in den Vormittagsstunden erfolgte, blieben die Tiere 2 Stunden ohne Nahrung.

Die Gewebeatmung wurde wie früher nach der Phosphatmethode von Dickens und Simer[7] gemessen. Die Leber wurde sofort nach der Tötung herausgenommen und geschnitten. Es wurden nur Schnitte verwendet, die keine Randbeschädigungen aufwiesen. In der Regel wurden für jeden Meßwert zwei Einzelbestimmungen vorgenommen, in einem weiteren Gefäß die präformierte Kohlensäure bestimmt. Der Sauerstoffverzehr und die Kohlensäurebildung wurden während 1 Stunde gemessen und auf die Gewichtseinheit des getrockneten Gewebes bezogen.

Der Phlorrhizinzusatz betrug in den Phlorrhizinansätzen 0,1 %, das Lactoflavin** wurde kurz vor dem Versuch in die Phosphatringerlösung eingewogen. Die Konzentration betrug 0,012 %.

Ergebnisse.

Wie aus den in Tabelle 1 mitgeteilten Werten hervorgeht, ließ sich in fast allen Fällen die Atmung von Rattenleberschnitten in Phosphatringer durch Lactoflavin steigern. Nur zweimal bei insgesamt 14 Versuchen blieb die Steigerung aus (Nr. 8 und 9). In dem einen Fall (Nr. 9) handelte es sich offenbar um eine Fehlbestimmung des Sauerstoffverbrauchs der Lactoflavinatmung, wie aus dem ungewöhnlich hohen respiratorischen Quotienten (RQ.) hervorgeht. Der mittlere Zuwachs des Sauerstoffverbrauchs durch den Lactoflavinzusatz betrug 23 %. Eine noch stärkere Zunahme wies die Kohlensäurebildung auf. Die respiratorischen Quotienten der Lactoflavinatmung lagen im Mittel um 16 % höher als die der Normalatmung. Man könnte daraus schließen, daß die Atmungssteigerung durch eine Mehrverbrennung von KH in den Leberzellen bewirkt wird.

---

* Nähere Angaben in der Arbeit von Wetzel, R., H. Wollschitt, H. Ruska u. Th. Oestreicher: Naunyn-Schmiedebergs Arch. 179, 86 (1935).

** Herrn Prof. Dr. R. Kuhn und Herrn Dr. L. Birkofer sind wir für die Überlassung des Präparates zu großem Dank verpflichtet.

[7] F. Dickens u. W. Simer: Abderhaldens Handb. IV, T. 13.

Tabelle 1. Atmung von Rattenleberschnitten in Phosphatringer.

Nr.	Normal		Lactoflavin		Phlorrhizin		Phlorrhizin und Lactoflavin	
	TQ_{O_2}	RQ.	TQ_{O_2}	RQ.	TQ_{O_2}	RQ.	TQ_{O_2}	RQ.
1	7,6	—	10,1	—	3,9	—	4,6	—
2	9,9	—	13,5	—	6,0	—	7,1	—
3	9,1	—	12,3	—	5,6	—	6,8	—
4	6,7	0,88	9,5	0,84	4,7	0,45	5,8	0,48
5	6,5	0,84	9,9	0,87	2,7	0,61	4,3	—
6	10,3	0,85	11,1	0,98	3,9	0,48	8,2	0,70
7	7,4	0,81	9,1	1,33	4,6	0,49	6,4	0,80
8	8,0	0,87	7,3	1,20	—	—	5,4	0,80
9	9,6	0,88	5,2	1,47	5,8	0,76	6,7	0,67
10	—	—	10,1	0,75	5,9	0,69	6,7	0,74
11	9,4	0,88	10,7	1,00	4,9	0,70	7,2	0,82
12	8,1	0,64	11,1	0,76	6,0	0,74	7,9	0,80
13	7,7	0,82	9,2	0,98	5,6	0,71	7,6	0,79
14	7,5	0,81	9,3	1,01	6,2	0,74	7,9	0,80
	8,3	0,81	10,2	0,94	5,0	0,64	6,6	0,74

Berechnet man sich aber aus dem Sauerstoffmehrverbrauch die bei zusätzlicher, ausschließlicher Verbrennung von KH zu erwartende Kohlensäurebildung, so bleibt diese hinter der tatsächlichen zurück. Es entsteht also mehr Kohlensäure als bei alleiniger Mehrverbrennung von KH durch den Lactoflavinzusatz zu erwarten wäre. Das geht auch aus dem RQ. der zusätzlichen Atmung hervor, für den sich ein Wert von 1,5 errechnet. Da eine glykolytische Mehrbildung von Kohlensäure, die diese auffallend hohen Werte erklären könnte, in die Kohlensäurewerte der Phosphatmethode von Dickens und Simer nicht mit eingehen kann, kann es sich nur um eine Mehrbildung von Atmungskohlensäure handeln. Für diese wird man zunächst nur eine Aktivierung CO_2-abspaltender Reaktionen durch Lactoflavin annehmen dürfen: Es wäre aber auch denkbar, daß es unter der Wirkung des Lactoflavins zu einer Umstellung des Zellstoffwechsels kommt, die zu einer Mehrbildung decarboxylierbarer Substanzen, in erster Linie von Brenztraubensäure und damit auch zu einer vermehrten Abspaltung von Kohlensäure führt. Da die Brenztraubensäure vorwiegend auf dem Abbauweg der KH entsteht, wäre die Wirkung des Lactoflavins dann letzten Endes in einer Aktivierung des KH-Stoffwechsels zu suchen, für welche die Untersuchungen von Wagner-Jauregg und Mitarb.[8] einen Hinweis geben könnten.

Auch am phlorrhizinvergifteten Lebergewebe ließ sich ein atmungssteigernder Effekt des Lactoflavins nachweisen, der etwa in derselben Größenordnung liegt wie beim normalen Gewebe. Man könnte also hier tatsächlich an eine antagonistische Wirkung denken, die allerdings in keinem Falle zu einer völligen Aufhebung der Phlorrhizinwirkung führte.

[8] Wagner-Jauregg, Th. u. Mitarb.: l. c.

Die Werte der phlorrhizinvergifteten Atmung mit Lactoflavinzusatz lagen im Mittel noch 20 % unter der Normalatmung. Auch die RQ. zeigten einen Anstieg, der hinter demjenigen der Normalatmung zurückblieb. Berechnet man den RQ. des durch Lactoflavin gesteigerten Atmungsanteils, so ergibt sich als Mittelwert aus sämtlichen Versuchen 1,06, als Mittelwert aus den sechs besten Versuchen (Nr. 9—14) 1,0.

Man könnte daraus schließen, daß die durch Lactoflavin gesteigerte Atmung von phlorrhizinvergifteten Leberschnitten ausschließlich durch die Verbrennung von KH bestritten wird, oder anders ausgedrückt, daß der durch Lactoflavin gesteigerte Anteil der Atmung, der ausschließlich durch eine Verbrennung von KH bestritten wird, durch Phlorrhizin nicht hemmbar ist.

Diese Annahme ließe sich nur schwer in Einklang bringen mit unseren früheren Ergebnissen und mit den von anderer Seite vorliegenden Befunden, daß das Phlorrhizin in erster Linie in die Phosphorylierung des Glykogens hemmend eingreift. Man müßte annehmen, daß durch Lactoflavin die Hemmung der Phosphorylierung teilweise aufgehoben wird, wofür sich bei unseren Versuchen am Gesamttier kein Anhalt ergeben hat[9]. Nun haben wir aber früher zeigen können[10], daß die Hemmung der Zellatmung durch Phlorrhizin nicht ausschließlich auf Kosten der KH-Verbrennung geht, sondern daß auch noch andere Verbrennungsprozesse an ihr beteiligt sein können. Für diesen zweiten Anteil der Phlorrhizinwirkung haben wir angenommen, daß er an den Zwischenacceptoren der Atmung angreift, in der Weise, daß die Weitergabe des aktivierten Wasserstoffs an das terminale Atmungssystem unterbunden wird. Hier könnte nun aber das Lactoflavin eingreifen, indem es die Rolle des durch Phlorrhizin ausgeschalteten Zwischenacceptors übernimmt und nun seinerseits den aufgenommenen Wasserstoff oxydiert oder ihn zur Oxydation weitergibt. Der Anstieg des Sauerstoffverbrauchs des phlorrhizinvergifteten Lebergewebes unter der Wirkung des Lactoflavins wäre dann in einer Erhöhung des Reaktionsgefälles für den Wasserstoff zu sehen, bzw. in der Aufhebung der Sperre, die durch Phlorrhizin an irgendeiner Stelle auf dem Transportwege zu den Orten der Endoxydation gesetzt wurde. In der kohlehydratreichen Leber, in der, wie wir früher zeigen konnten[11], vorwiegend KH umgesetzt werden, wird sich das aber so auswirken, daß die durch die Erschwerung der Wasserstoffabgabe in ihrer Wirkung gleichfalls gehemmten Dehydrasensysteme nun ihrerseits eine Aktivierung erfahren, durch die es zu einem vermehrten Anfall von dekarboxylierbaren Substanzen kommt. Eine geringe Erhöhung der RQ. der phlorrhizinvergifteten Leberatmung durch Lactoflavin, wie wir sie beobachtet haben, wäre also durchaus denkbar,

[9] Siehe die vorangehende Arbeit von K. H. Pfeffer u. R. Wetzel. — [10] Wetzel, R., u. C. Meadows: Naunyn-Schmiedebergs Arch. 187, 192 (1937) und Wetzel, R.: l. c. — [11] Siehe die vorangehende Arbeit von R. Wetzel.

auch ohne daß dieses die Hemmung der Phosphorylierung des Glykogens aufzuheben braucht. Daß diese weiter bestehen bleibt, geht aus den RQ. der phlorrhizinvergifteten Lactoflavinatmung hervor, die mit 0,74 erheblich tiefer als die entsprechenden Werte der normalen Lactoflavinatmung (0,94) liegen.

Auch die Prüfung der Lactoflavinwirkung am isolierten phlorrhizinvergifteten Lebergewebe hat also keinen Anhalt dafür ergeben, daß das Lactoflavin die spezifische Wirkung des Phlorrhizins auf die Phosphorylierung des Glykogens, die in erster Linie als Ursache für die eigentümliche Störung der Glucose-Rückresorption in den geraden Harnkanälchen in Frage kommt, aufzuheben imstande ist. Die von uns beobachtete Wirkung des Lactoflavins dürfte vielmehr in Zusammenhang stehen mit der von uns früher beschriebenen unspezifischen Herabsetzung der Zellatmung, deren Ursache in einer teilweisen Hemmung des Systems der Zwischenacceptoren zu suchen ist und für die der Nachweis eines Zusammenhanges mit der Ursache der Phlorrhizin-Glucosurie vorerst nicht zu erbringen ist.

Aus der Unterabteilung für biologische Arzneimittelkontrolle des Staatlichen Ungarischen Hygienischen Institutes, Budapest.

Weitere Untersuchungen über die verschiedene Empfindlichkeit der Temporarien und Eskulenten gegen herzwirksame Stoffe.

Von

A. Stasiak.

(Eingegangen am 31. Mai 1943.)

Im vergangenen Jahre wurden in dieser Zeitschrift[1] die Ergebnisse vergleichender Untersuchungen mitgeteilt, welche bewiesen, daß die Empfindlichkeit der Temporarien bzw. Eskulenten gegen herzwirksame Stoffe eine ganz verschiedene ist. Auf Grund dieser Ergebnisse wurde auf die prinzipielle Bedeutung des qualitativ gleichartigen Standardes bei biologischen Wertbestimmungen hingewiesen.

Im laufenden Jahre bot sich uns Gelegenheit, weitere herzwirksame Stoffe an Eskulenten und Temporarien vergleichend zu prüfen. Zur Untersuchung gelangten: 1. das von Stoll aus Strophanthus-Kombé-Samen isolierte Glykosid k-Strophanthosid; 2. das ebenfalls von Stoll isolierte Lanatosid-C der Digitalis lanata; 3. das isomorphe A-B-C-Lanataglykosidgemisch, hergestellt nach Stolls Verfahren durch die Chinoin-Fabrik (Ujpest, Ungarn); 4. ein Digitalis lanata-Blätterpulver und 5. ein Digitalis purpurea-Blätterpulver, welches aus West-Ungarn stammte und sich durch einen besonders hohen Wirkungswert kennzeichnete.

Aus den isolierten Glykosiden wurden wässerige (k Stronphanthosid) bzw. alkoholische (Lanataglykoside) Stammlösungen bereitet, welche zu den Froschversuchen weiterhin mit Wasser verdünnt wurden. Aus den Blätterpulvern wurden Tinkturen hergestellt (10 g Droge auf 100 ccm Menstruum) mit 70 vol.%igem Alkohol, durch 48stündige Maceration. In Parallelversuchen wurden die Dosis-Wirkungskurven der einzelnen Glykoside bzw. Blätterauszüge an Temporarien und Eskulenten bestimmt, und aus ihnen die L_D 50 mit Hilfe der Methode der kleinsten Quadrate errechnet. Die einzelnen Punkte der Kurven wurden an je 20—25 Fröschen ermittelt. Die methodischen Einzelheiten der zeitlosen Froschmethode wurden genau so beibehalten, wie wir dies in unserer bereits erwähnten Arbeit mitgeteilt hatten.

Zwecks Raumersparnis soll diesmal von der zahlenmäßigen Wiedergabe der einzelnen Dosis-Wirkungskurven abgesehen werden und wir beschränken uns darauf, in Tabelle 1 die L_D 50 der einzelnen Glykoside bzw. Blätterauszüge, bestimmt an Temporarien und Eskulenten, übersichtlich wiederzugeben.

[1] Stasiak, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **200**, 211 (1942).

Tabelle 1. Vergleich der L_D 50 an Temporarien und Eskulenten.

Froschart	L_D 50 mg/100 g				
	k-Strophanthosid	Lanatosid-C	A-B-C Lanataglykosidgemisch	Digitalisblätterpulver als Tinktur	
				Lanata	Purpurea
Temporarien ..	0,051	0,174	0,214	38,24	24,90
Eskulenten....	0,034	0,598	0,735	53,45	22,89

Diese Prüfungsergebnisse liefern einen weiteren Beweis zu der bereits im vorigen Jahre festgestellten Tatsache, daß die Empfindlichkeit der Eskulenten und Temporarien gegen die einzelnen herzwirksamen Stoffe weitgehend verschieden ist. Wird die Empfindlichkeit der Temporarien = 1 gestellt und hierauf die der Eskulenten bezogen, so ergeben sich folgende Werte:

k-Strophanthosid	1,50
Lanatosid-C	0,29
Isomorphes Lanataglykosidgemisch	0,29
Lanatablätterpulver als Tinktur	0,72
Pupureablätterpulver als Tinktur	1,09

Es ist von Interesse zu bemerken, daß Eskulenten gegen das k-Strophanthosid gerade so 1,5mal empfindlicher sind wie gegen das im vorigen Jahre untersuchte k-Strophanthin-Böhringer (siehe unsere bereits erwähnte Arbeit). Auch die Werte der L_D 50 sind für die beiden Glykoside als nahezu gleich gefunden worden, und zwar beträgt der Temporarienwert für k-Strophanthin 0,053, für k-Strophanthosid 0,051, der Eskulentenwert 0,036 bzw. 0,034 mg/100 g Froschgewicht. Die Empfindlichkeit der Eskulenten gegen die Lanataglykoside beträgt bloß rund ein Drittel der Temporarienempfindlichkeit, aber die L_D50 des Lanatosid-C bzw. des Glykosidgemisches sind bei beiden Froscharten verschieden.

Bisher wurden von uns 6 verschiedene Glykoside bzw. Glykosidgemische (k-Strophanthin, k-Strophanthosid, g-Strophanthin, Digalensubstanz, Lanatosid-C, Lanataglykosidgemisch), ein Digitalis lanata-Blätterpulver und 3 verschiedene Digitalis purpurea-Blätterpulver (Caesar-Loretz-Droge, internationales Standardblätterpulver und die in West-Ungarn gesammelten Blätter, welche wir rund 2,5mal so wirksam fanden wie das internationale Purpureastandard) untersucht. Die beiden Froscharten erwiesen sich bloß gegen die alkoholischen Extrakte der Purpureablätter als gleich empfindlich (die auf Temporarien bezogene Eskulentenempfindlichkeit beträgt 1,02, 1,05 und 1,09). Eskulenten sind im allgemeinen gegen alle bisher untersuchten herzwirksamen Stoffe weniger empfindlich als Temporarien. Ausnahme bilden die Glykoside des Strophanthus-Kombé, welche an Eskulenten wirksamer sind als an Temporarien.

Die Bedeutung der hier mitgeteilten Ergebnisse in bezug auf die biologische Wertbestimmung der verschiedenen herzwirksamen Präparate

wurde bereits in unserer erwähnten Arbeit mit Nachdruck hervorgehoben, so daß sich eine nochmalige Stellungnahme zur Frage der unbedingten Wichtigkeit des qualitativ gleichartigen Vergleichsstandardes sich von unserer Seite diesmal erübrigt.

Jedoch möchten wir kurz Bezug nehmen auf eine Arbeit von Simon[2], welche sich mit der Standardisierung der Lanatablätterpulver befaßt und zur Wertbestimmung dieser Blätterpulver als Vergleichsstandard das isomorphe Lanataglykosidgemisch empfiehlt. Unserer Meinung nach weisen die Ergebnisse von Simon — Untersuchungen an Katzen und Eskulenten — bereits darauf hin, daß das Lanataglykosidgemisch nicht als zweckentsprechendes Vergleichsstandard angesehen werden kann und diese unsere Meinung erfährt weitere Unterstützung durch die hier mitgeteilten Versuchsergebnisse. Sollte die Zukunft die Notwendigkeit bringen, daß zum pharmazeutischen Gebrauch auch Lanatablätterpulver mit einem bestimmten Wirkungswert in den Handel kommen sollen, so muß für ein Lanatablätterpulverstandard Sorge getragen werden, denn als prinzipiell entsprechendes, qualitativ gleichartiges Standard kann bloß ein solches in Betracht kommen.

Zusammenfassung.

In Fortsetzung bereits mitgeteilter Versuchsergebnisse wurde die verschiedene Empfindlichkeit der Temporarien und Eskulenten gegen folgende herzwirksame Stoffe festgestellt: k-Strophanthosid, Lanatosid-C, das isomorphe A-B-C-Lanataglykosidgemisch, ein Lanatablätterpulver und ein Purpureablätterpulver, welches sich rund 2,5mal wirksamer ergab als das internationale Purpureastandard.

Auf Grund sämtlicher Versuchsergebnisse wird festgestellt, daß die beiden Froscharten gegen alkoholische Extrakte der Purpureablätter annähernd gleich empfindlich sind. Mit Ausnahme der Glykoside der Strophanthus-Kombé-Samen, gegen welche Eskulenten empfindlicher sind als Temporarien, wurden alle übrigen untersuchten herzwirksamen Stoffe an Temporarien wirksamer gefunden als an Eskulenten.

[2] Simon, S.: Magyar Gyógyszerésztud. Társaság Értesitöje Nr. 1 (1942).

Aus dem Institut für Pharmakologie und experimentelle Therapie der Universität Breslau. (Direktor: Professor Dr. Eichler.)

Über die Histaminwerte im Blutplasma bei Anoxämie.

Von

O. Eichler, G. Speda und **E. Wolff.**

Mit 1 Textabbildung (2 Einzelbildern).

(Eingegangen am 3. Juli 1943.)

Frühere Versuche[1] hatten ergeben, daß die Histaminwerte im Blutplasma als absolut von der Atmung abhängig zu betrachten sind. Hyperventilation führt zur Verminderung, Lähmung der Atmung etwa durch Morphin zu teilweise beträchtlicher Vermehrung der Werte. Dabei möge Histamin in den Geweben, z. B. den Muskeln, entstehen, aber ob es im arteriellen Blut auftaucht oder nicht, entscheidet sich in der Lunge, wie durch intravenöse Infusion von Histamin dargetan werden konnte. Durch die Versuche mit Barfuss[2] ist auch erwiesen, daß dieses Schicksal dem Histamin selbst zukommt und nicht irgendeiner nach dem üblichen Verfahren von Code bestimmten histaminähnlichen Substanz. Nach diesem Stand der Befunde war der Versuch ein fast selbstverständlicher Schritt, nicht auf dem Wege über das Atemzentrum, sondern durch Einatmung von Luft, die an Sauerstoff verarmt war, die Steigerung des Histamingehaltes zu erreichen. Dadurch wäre dann die Art der Entgiftung weiter zu verfolgen. da die Bedingungen konstant gehalten werden können, wie wir dachten. Damit ergab sich das experimentelle Vorgehen wie selbstverständlich.

Methodik.

Versuchstiere waren Katzen. Nur diese eignen sich — neben Hunden — für solche Versuche, da die Histaminwerte des Plasmas genügend niedrig sind, also Steigerungen und auch Senkungen bei O_2-Zufuhr leichter zur Geltung kommen werden. Kaninchen sind völlig ungeeignet, weil bei ihnen offenbar ein ungewöhnlicher Stoffwechsel und eine abweichendeWirkung des Histamins vorliegt. Nach den Versuchen von Code[3] sollte man nicht mehr das Gesamtblut, sondern nur das von Leukocyten freie Plasma zur Analyse des Histamins verwenden, da nur die tatsächlich im Plasma befindliche, nicht in Leukocyten eingeschlossene Substanz an Wirkung und Stoffwechsel direkt teilnimmt. Deshalb wurde von uns prinzipiell nur Plasma untersucht. Dem entnommenen Blut wurde HCN zugesetzt, um eine eventuell vorhandene Histaminase unschädlich zu machen. So konnte man es ohne größeren Fehler einige Zeit stehenlassen. Länger als 30—60 Minuten wurde das von uns trotzdem nicht getan, sofort erfolgte das Zentrifugieren, um auf jeden

[1] Eichler, O., u. G. Speda: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 152 (1940). — [2] Eichler, O., u. F. Barfuss: Ebenda **195**, 245 (1940). — [3] Code, C. F.: J. Physiol. (Brit.) **90**, 349 (1937).

Fall zu vermeiden, daß durch Zerstörung von Leukocyten in den Zellen gebundenes Histamin frei werden würde. Zu einer Analyse benötigten wir nicht mehr eine Blutentnahme von 10 ccm wie bei Code, sondern mit kompendiöserer Apparatur nur noch 2 ccm. Dadurch konnten wir an demselben Tier zahlreiche Bestimmungen vornehmen. Die Tiere narkotisierten wir zum Versuch meist mit Urethan, seltener mit dem Straubschen Urethan-Chloralosegemisch.

Zur Reduktion des O_2 in der Atmungsluft wurde in einem großen Gasometer Sauerstoff und Stickstoff gemischt. Abgesehen von nur einem Versuch verwandten wir eine Mischung von 10% Sauerstoff und 90% Stickstoff. Aus diesem Gasometer wurde das Gemisch nicht etwa durch Spontanatmung des Tieres, sondern durch eine Starlingsche Atempumpe entnommen und dem Tiere künstlich zugeführt. Die Frequenz der Atmung wurde danach eingestellt, wie das Tier vorher atmete. Da das Volumen etwas größer war, kam eine Gegenatmung kaum vor. Durch die auf diese Weise erreichte Ausschaltung des Atemzentrums war nach unseren bisherigen Erfahrungen eine viel größere Gleichmäßigkeit der am atropinisierten Meerschweinchendarm getesteten Histaminwerte zu erwarten, die wir immer als Histamindihydrochlorid angeben.

Auf diese Weise wurden Versuche an insgesamt 29 Katzen ausgeführt.

Befunde.

Trotz der Einfachheit der Versuchsanordnung und der Gesetzmäßigkeit der erzielten Resultate wurden die Versuche häufig wiederholt und abgewandelt, weil das Resultat völlig unerwartet war hinsichtlich der Höhe des erreichten Histaminspiegels. Wir beobachteten maximal den unglaublich hohen Wert von 480 γ/ccm Plasma, wie auf Tabelle 1 folgende Beispiele aus unseren Protokollen zeigen.

Tabelle 1. Histaminwerte in γ/ccm Plasma.

Vorher	Nach Beatmung mit 10% O_2		
	10 Min.	30 Min.	80 Min.
0,056	480	400	0,2
0,12	30	120	0,1

Aus diesen Werten ersieht man, daß trotz Fortdauer der Beatmung mit dem an Sauerstoff armen Gemisch die Werte einem Rückgang unterliegen. Wir versuchten zwei Faktoren als Ursache verantwortlich zu machen.

Erste Frage: War es möglich, daß im Plasma eine Histaminase auftauchte, die zur Zerstörung des Histamins im strömenden Blute beitrug? Die Antwort auf diese Frage versuchten wir derart zu erreichen, daß wir das durch Aderlaß erhaltene Blut in 2 Teile teilten, von denen der eine Teil mit, der andere ohne Zusatz von HCN 1—2 Stunden stehen blieb. Die erhaltenen Resultate geben wir auf Tabelle 2 wieder.

Auf der Tabelle 2 sehen wir nur wenige und nicht ausschlaggebende Werte, die eine wesentliche Zersetzung anzuzeigen scheinen. Da wir die Fehlergrenze mit 20% anzunehmen haben, sind in den Versuchen Schwan-

Tabelle 2. Histaminwerte in γ/ccm Plasma.

Datum des Versuchs	Behandlung des Blutes	Nach Beginn der Beatmung mit 10% O_2				
		Vorher	15 Min.	30 Min.	45 Min.	60 Min.
17. VI. 40	Mit HCN	0.04	176,0	100,0	100,0	0,26
	Ohne HCN	0,032	72,0	92,0	120,0	0,08
19. VI. 40	Mit HCN	0,025	100,0	50,0	50,0	0,04
	Ohne HCN	0,025	80,0	50,0	50,0	0,025
24. VI. 40	Mit HCN	0,01	100,0	40,0	28,0	0,075
	Ohne HCN	0,04	92,0	80,0	28,0	0,012

kungen nach oben oder unten in dieser Richtung nicht zu verwerten und wie Doppelbestimmungen einzusetzen. In dem Versuch vom 24. VI. 1940 sind zwei Werte ohne HCN über die Fehlergrenze größer als der andere, darunter der Normalwert. Wie das zu verstehen ist, ist nicht ersichtlich, ob durch Verwechslung, ist nicht zu entscheiden, können auch den allgemeinen Beweis dieser Versuche nicht verkleinern, daß eine Zerstörung des Histamins im strömenden Blut durch Fermente nicht nennenswert stattfindet.

Das gilt insbesondere auch nicht für die Leukocyten. Wir zählten in einer Reihe von Versuchen bei jeder Entnahme auch die Leukocyten, fanden aber nie eine Zunahme nach der Einatmung von sauerstoffarmen Gemischen, sondern nur eine geringfügige Abnahme, die aber in keiner Weise mit den beobachteten Histaminwerten konform ging.

Zweite Frage: Stammt das im Blut auftauchende Histamin aus der in den Geweben vorgebildeten Base, wie es von Dale, Best und Dudley nachgewiesen wurde und erschöpft sich der Vorrat daran derart, daß erst eine O_2-Atmung dazwischen geschaltet werden muß, um die alten Histaminwerte zu erreichen?

Um diese Frage zu beantworten, gingen wir so vor, daß nach einer Periode der Anoxämie von 30 Minuten eine Periode normalen O_2-Gehalts zwischengeschaltet wurde, dann wurde eine zweite gleiche Beatmung von O_2-armen Gemischen vorgenommen. Die Resultate geben wir auf Tabelle 3 wieder.

Aus dieser Tabelle sehen wir erstens, daß der Anstieg in der ersten Periode nicht mit der Regelmäßigkeit erfolgt, wie man es erwarten sollte, also war in der ersten halben Stunde vom Abklingen des Histamingehalts nichts Sicheres zu sehen. Die Zwischenperiode zeigt dann das Abklingen der Konzentration. Deutlich ist in der zweiten Periode, und zwar bei fünf Versuchen, daß der Anstieg regelmäßig und rasch erfolgt, aber ebenso rasch der Abfall. In einem Versuch (15. V.) erfolgt ein Anstieg überhaupt nicht und ist auch in der ersten Periode nur sehr geringfügig. Im ganzen kann man in diesen Versuchen eine Andeutung in der vermuteten Richtung ersehen, daß nämlich eine Art Erschöpfung der Histaminvorräte eintreten könnte.

Tabelle 3. Histaminwerte in γ/ccm Plasma.

Datum	Vorher	Zeit nach Beginn der N_2-Atmung								
		10 Min.	20 Min.	30 Min.	Luft			10 Min.	20 Min.	30 Min.
21. V. Luft*	0,056	0,064	0,88	40,0	0,056 30 Min.	0,07 55 Min.		56,0	32,0	0,4
3. VI. Luft*	0,04	16,0	8,0	100,0	0,09 30 Min.	0,02 45 Min.		9,6	10,4	0,035
15. V. Luft*	0,048	2,0	0,4	6,4	0,056 40 Min.	0,048 60 Min.		0,56	0,08	0,07
24. VII. Luft*	0,1	1,0	8,0	24,0	3,0 20 Min.	0,448 40 Min.	0,208 60 Min.	7,2	2,08	0,08
26. VII. Luft*	0,04	16,0	64,0	128,0	0,16 20 Min.	0,04 40 Min.	0,04 60 Min.	220,0	8,0	0,04
		15 Min.	30 Min.	45 Min.	60 Min.	bei Luft 45 Min.	15 Min.	30 Min.	45 Min.	60 Min.
5. VI.	0,015	40,0	4,0	1,44	2,4	0,05	5,0	16,0	0,04	0,02

* Zeit nach der Lufteinatmung in der Zwischenperiode.

Um diese Frage weiter zu verfolgen, haben wir in einer weiteren Versuchsserie die Beatmung mit 10 % O_2 auf 2 Stunden ausgedehnt. Die Resultate legen wir auf Tabelle 4 vor.

Tabelle 4. Histaminmenge in γ/ccm Plasma, gerechnet Histamindihydrochlorid.

Datum des Versuchs	Zeit nach Beginn der Beatmung in Minuten								
	0	15	30	45	60	75	90	105	120
27. VI. 40	0,04	60,0	40,0	2,4	8,0	24,0	20,0	0,048	0,04
1. VII. 40	0,04	120,0	108,0	10,0	0,1	—	0,025	—	12,0
12. VII. 40	0,16	112,0	3,2	60,0	75,0	32,0	6,0	0,075	0,08
15. VII. 40	0,27	240 0	224,0	112,0	60,0	52,0	280,0	7,2	0,06
18. VII. 40	0,28	220,0	60,0	160,0	28,0	0,12	90,0	33,0	0,125
22. VII. 40	0,14	44,0	24,0	136,0	184,0	5,6	160,0	44,0	0,18
16. IX. 40	—	24,0	11,5	—	0,04	—	60,0	—	—
Durchschn.:	0,155	117,0	67,3	80,0	50,7	22,7	88,0	16,8	2,08

Auf dieser Tabelle ist ersichtlich, daß auch ohne die Zwischenschaltung einer O_2-Atmung intermediär eine Senkung des Histamingehalts erfolgt, der dann wieder zunimmt. Das ist aus den starken Schwankungen der Einzelversuche, aber selbst bei den Durchschnittswerten ersichtlich.

Nun ergibt sich aber hierbei eine Komplikation, die wir im einzelnen Mangels geeigneter Apparaturen nicht verfolgen konnten. Wenn man die Farbe des beim Aderlaß gewonnenen Blutes beobachtet, kann man den tatsächlichen O_2-Gehalt ganz grob abschätzen. Bei dieser Schätzung zeigte es sich, daß aus irgendwelchen uns unbekannten Gründen trotz Fortatmung desselben O_2-Gemisches aus demselben Gasometer mit derselben

Amplitude und Frequenz unserer Atmungspumpe die Farbe des Blutes zwischendurch heller wird, also muß die Ausnutzung des angebotenen Sauerstoffs besser werden. So könnte man das Sinken des Histamingehalts wie auch den neuerlichen Anstieg erklären. Wenn man dann auf den raschen gleichmäßigen Verlauf der Histaminmengen bei der zweiten anoxämischen Periode auf Tabelle 3 hinweist, würde man vielleicht der Auffassung den Vorzug geben, daß die abgegebenen Histaminmengen sich erschöpfen und erst das O_2 für Aufladung bedürfen, aber ein erschöpfender Beweis in dieser Richtung ist damit nicht gegeben.

Wir versuchten nun den Grund für eine bessere O_2-Nutzung zu finden. Nach Wagner[4] würde man durch Tiefertreten des Zwerchfells eine Vermehrung der an der größeren Alveolarfläche ausgebreiteten Zahl der Kapillaren mit besserer O_2-Aufnahme erwarten können. Daß bestimmte Teile des Atemzentrums in der Lage sind, durch Tonisierung des Zwerchfells eine bessere Ausnutzung der Atemluft im Sinne der Regulation zu erreichen, haben andere Versuche[5] ergeben. Wir versuchten, das Zwerchfell künstlich niedriger zu drängen, indem bei der künstlichen Atmung in den Kreis der Ausatmung ein kleiner Widerstand eingeschaltet wurde. Diese Art des Versuchs bedeutet nur eine Annäherung an die eventuell vorliegenden Verhältnisse, wegen der Veränderung in der Dynamik des kleinen Kreislaufs. Doch wenigstens ungefähr müßte etwas erreicht werden können. In dem Histamingehalt haben wir unter den verschiedensten Versuchsbedingungen keine Änderung erzielen können.

Als Versuchsvarianten nennen wir: Änderung des Ausatmungsdruckes von 1—10 cm H_2O bei normaler und reduzierter O_2-Versorgung.

Mit kleineren O_2-Drucken (15% O_2) haben wir nur einen einzigen Versuch ausgeführt mit demselben Resultat wie oben.

Nach zwei Normalwerten von 0,048 und 0,046 γ/ccm waren nach der Reduktion des O_2-Gehalts die im Abstand von 10 Minuten gefundenen Werte 5,0, 12,0, 2,5, 0,016 γ/ccm, also auch hier ein deutlicher Anstieg, der aber sehr viel flüchtiger zu sein schien, jedoch nicht außerhalb des Streuungsbereichs unserer vorher angeführten Versuche.

Nach diesen Versuchen wurde noch die Frage aufgeworfen, ob die nach Code aufgefundenen Mengen* tatsächlich aus Histamin bestehen. In einigen Versuchen wurde von dem erhaltenen Extrakt eine Eichung zugleich am Blutdruck einer atropinisierten Katze mit demselben Resultat vorgenommen.

Vor allem interessierte es uns aber, ob das Histamin im Blute in tatsächlich wirksamer Form oder maskiert vorkommt. Dieses Problem

[4] Wagner, R.: Z. Biol. **96**, 410 (1935). — [5] Eichler, O., u. H. W. Klein: Z. exper. Med. **99**, 28 (1936).

* Eine Reihe von Versuchen wurden nach der Originalmethode von Barsoum und Gaddum mit Alkoholextrakten vorgenommen, ohne daß wir etwa niedrigere Werte erhalten hätten.

mündet ein in die früher von uns gefundene Entstehung der Tachyphylaxie [6]. Es konnte hier durch Acidose die Unterbrechung einer durch Histamin begonnenen Bronchokonstriktion erzielt werden, und zwar so, daß nach Ablauf der Acidose die Bronchokonstriktion wieder zu der erwarteten Höhe anstieg. Bei unseren Versuchen mit Anoxämie werden wir eine Acidose teilweise erwarten können, da wir die Atmung durch die Atempumpe vornahmen, während bei spontaner Atmung eine Alkalose zur Beobachtung kam [7, 8]. Tatsächlich zeigte in unseren Versuchen der gleichzeitig registrierte Blutdruck keine Andeutung dafür, daß sich im Blute eine so stark kreislaufwirksame Substanz in dieser Konzentration befand. Wir verzichten auf die Wiedergabe entsprechender Kurven.

Die Tachyphylaxie brauchte nicht gleichmäßig alle Organe zu ergreifen, auch bei von außen zugeführtem Histamin. So haben wir bei chronischen Infusionen [9] teilweise die Tachyphylaxie herbeigeführt, um ohne Schädigung des Kreislaufs eine Einwirkung auf den Darm zu erzielen, indem wir die Infusion zeitweise unterbrachen. Der Darm erwies sich also als weniger tachyphylaktisch reagierend. Die Reihenfolge bei anderen Organen wurde früher ausführlich am Kaninchen untersucht [6].

Wir verfuhren nun in weiteren Versuchen so, daß wir neben der mit 10% O_2—N_2-Gemischen beatmeten Katze eine zweite Katze hatten, an der wir nach Atropinisierung eine direkte Auswertung des von der ersten Katze entnommenen Blutes vornehmen konnten. Das Blut brauchte nach der Entnahme nur 30 Sekunden, bis es dem Testtier injiziert wurde. Eine Zersetzung und Neubildung irgendeines Frühgiftes konnte in dieser Zeit wohl kaum in Frage kommen. Zugleich wurde ein anderer Teil des Blutes, ohne Zusatz von Blausäure, nur mit Heparin, sofort zentrifugiert und das Plasma innerhalb von 10 Minuten am Meerschweinchendarm direkt getestet. Bei der Höhe unserer Werte brauchten nur hohe Verdünnungen des Plasmas zur Verwendung zu kommen. Ein dritter Teil wurde wie üblich nach Code verarbeitet. Auch jetzt wurden zugleich die Leukocyten gezählt, ohne aber eine wesentliche Änderung zu zeigen. Sechs solcher dreifachen Versuche haben wir ausgeführt.

Von den Resultaten legen wir einen Versuch auf Tabelle 5 ausführlich vor, weil bei ihm nicht nur das Vorkommen einer Blutdrucksenkung bei der zweiten Katze in bestimmter Höhe erwiesen war, sondern weil es auch gelang, die Histaminmenge durch Vergleich einigermaßen festzulegen. Diese Forderung ist nicht so leicht zu erfüllen, wie es scheint. Denn erstens muß die Entnahme in rascher Folge geschehen, so daß bei Innehaltung genügender Abstände kaum eine Injektion von Histamin zwischengeschaltet

[6] Eichler, O., u. H. Mügge: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **159**, 633 (1931) — [7] Rühl, A.: Dtsch. med. Wschr. **1943**, S. 25. — [8] Gollwitzer-Meier, K.: Luftf.med. **6**, 296 (1942). — [9] Eichler, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 429 (1937).

werden kann. Zweitens weiß man nicht, welche Menge man zu erwarten hat. Nachträgliche Eichung gibt wegen tachyphylaktischer Reaktion keine Sicherheit. Deshalb verwerteten wir nur zeitlich benachbarte Injektionen.

Tabelle 5.

	Zeit nach der N_2-Atmung in Min.			
	15	30	60	90
Code	10,0	300,0	240,0	32,0
Direkt	12,5	140,0	10,0	0,05
Zweite Katze	< 1	$> 5{,}2$	$> 13{,}0$	0

Abb. 1.
a) 1 ccm Blut, in dem 300 γ/ccm Plasma gefunden wurden,
b) 5,2 γ Histamin,
c) 1 ccm Blut, in dessen Plasma 240 γ/ccm Histamin gefunden wurden,
d) 13 γ Histamin.

Die Reihenfolge der Testung ist bis auf einen Versuch dieselbe, d. h. wir haben die höchsten Werte nach Code, dann folgen die Werte am Darm, dann die am Blutdruck. Nur in einem der sechs Versuche waren die direkten, am isolierten Darm bestimmten Werte höher als nach Code, und zwar wurde in diesem Versuch trotz Stickstoffatmung keine Erhöhung der Code-Werte erhalten, so daß gerade hierin die Abweichung zu liegen schien. Es wurden sogar mit dem Blutdruck höhere Werte getestet.

Diskussion.

Unsere Befunde geben uns folgende Aufschlüsse:

1. Ein Teil des Histamins ist in aktiver Form im Kreislauf vorhanden. Die Menge würde völlig ausreichen, um einen schweren Schock bei einem normalen Tier hervorzurufen, wie unsere Histaminanalysen mit Barfuss[2] nach Histamininjektion zeigen. Hier zeigte sich die früher in den Versuchen mit Mügge[6] gefundene Empfindlichkeitsherabsetzung der Organe.

2. Der größte Teil ist pharmakologisch nicht aktiv. Wenn wir hier den Darm immerhin noch empfindlicher als den Blutdruck finden, so gilt das entsprechend früheren oben schon zitierten Befunden[9], nach denen die Tachyphylaxie den Darm später traf als die Kreislauforgane. Wir dürfen aber nicht daraus schließen, daß die Peristaltik des Darmes bei den Anoxämien zunehmen muß, da die Frage der Acidose zu berücksichtigen wäre. Außerdem ist Punkt 3 heranzuziehen.

3. Der am meisten interessierende Teil wäre der pharmakologisch inaktive. Dieser Teil muß in Form von komplexer Bindung vorliegen.

Diese Bindung wird offenbar durch den Aufbereitungsprozeß nach Code gelöst. Da wir in ersten orientierenden Versuchen zur chemischen Isolierung des Histamins — und damit zum einwandfreien Beweis, daß die gefundene Substanz tatsächlich aus Histamin besteht — feststellten, daß an diesem Komplex neben Histamin noch zwei weitere Komponenten vorliegen, liegen hier beträchtliche Möglichkeiten von Varianten vor. Wir haben bestimmte Andeutungen über eine der an dem Komplex beteiligten Substanzen. Durch Adsorption an Permutit muß man annehmen, daß es sich um ein Kation handelt. Die Forderung nach einem dritten Komplexpartner erhebt sich deshalb, weil eine Entgiftung des Histamins durch die von uns vermuteten Partner nur beschränkt möglich ist, d. h. die zur Bindung des Histamins an die Organe und damit zur Histaminwirkung notwendige Konkurrenz an der Oberfläche der Organe ist stärker als der Partner der künstlichen Lösung. Durch die Möglichkeit der konkurrierenden Bindung an die Organe und ihre verschiedene Affinität erklärt sich auch, daß die Tachyphylaxie der Organe nicht gleichmäßig in Erscheinung tritt. Wie hiermit das Problem der Tachyphylaxie neue Aspekte bekommt und wie die Lösung des Problems die so nahe schien [6], sich verschiebt, ist ohne weiteres ersichtlich. Noch öffnet sich der Gesichtswinkel, ohne auf irgendein bekanntes Phänomen zurückzuführen. Alle unsere bisherigen Versuche [1, 2, 6] ergeben, daß der Organismus eine große Zahl von Sicherungen gegen Frei- und Wirksamwerden von Histamin besitzt. Diesem scheint lokale Funktion zuzukommen.

Zusammenfassung.

Beatmet man Katzen mit einer O_2-armen Gasmischung, dann steigt der Histamingehalt im Blutplasma (nach Code bestimmt) bis zu Werten von 480 γ/ccm. Der Anstieg bleibt nicht auf gleicher Höhe trotz Fortführung der Beatmung mit dem sauerstoffarmen Gemisch, sondern geht bis auf kleine, selbst normale Werte zurück. Es bestehen Anhaltspunkte dafür, daß dieser Rückgang auf einer Erschöpfung der Vorräte beruht. Teilweise wird aber die Aufnahme von O_2 durch einen unbekannten Vorgang besser. Nicht wird der Rückgang verursacht durch Bluthistaminase oder veränderte Zahlen von Leukocyten.

Prüft man die Wirkung des Blutes direkt an einer zweiten Katze, dann erweist sich die Wirkung beträchtlich schwächer als der Testung nach Code entspricht. Die direkte Testung am Meerschweinchendarm liegt zwischen beiden Werten. Demnach sind die vorgefundenen Histaminmengen nur zum kleinsten Teil in aktiver Form vertreten, sondern meist in komplexer Bindung. Diese Bindung wird durch die Aufarbeitung nach Code gelöst. Es ergeben sich neue Aspekte für die Tachyphylaxie und damit für die Bedingungen der Wirkung eines Medikamentes überhaupt.

Aus dem Institut für Pharmakologie und experimentelle Therapie der Universität Breslau (Direktor: Prof. Dr. O. Eichler).

Über Potentialgifte, insbesondere die Art der Wirkung von Acetylcholin in Versuchen am isolierten Darm.

Von

O. Eichler.

Mit 10 Textabbildungen.

(Eingegangen am 3. Juli 1943.)

Die Konzeption Straubs[1], daß die Giftwirkung, oder doch Teile der Giftwirkung einer Substanz dann und nur dann in Erscheinung treten, wenn das Gift in die Zelle eindringt oder aus ihr auswandert, wurde viel diskutiert, ist aber rätselvoll, wenn man nach einer bildmäßigen Vorstellung ihrer Wirkungsart sucht. Deshalb lehnt Clark[2,3] diesen Typ der Giftwirkung gänzlich ab.

Es ist direkt plausibel, daß eine Zellfunktion zunehmend mit der Konzentration beeinflußt wird. Hier klingen sofort Verhältnisse der chemischen Kinetik an. Ebenso ist es noch einigermaßen möglich, den an die Dauer der Einwirkung gebundenen Effekt aus ähnlichen Gründen oder aus zunehmender Speicherung in der Zelle usw. zu verstehen, für die Potentialgifte ist das anscheinend nicht möglich. Nun kann man sich wie die moderne Physik mit einer rein formalen Beschreibung helfen und begnügen. Heubner[2] formulierte Wirkung $= a \frac{\Delta C}{\Delta t}$ (C = Konz., t = Zeit) und diese Formulierung hat vielfach Anklang gefunden, z. B. auch bei Kahlson, obwohl in seinen Arbeiten gerade von Experimenten berichtet wird, die mit dieser Formulierung nicht mehr vereinbar sind.

Im diesen Experimenten[4,5] wird dargestellt, daß die Richtung der Eindiffusion von Acetylcholin von Bedeutung ist, indem z. B. vom Innern des Froschherzens mit Konzentrationen Effekte erzielt werden können, die von außen nicht mehr einwirken. Dasselbe wird beim Darm gefunden[4]. Bei diesen Versuchen handelt es sich aber um einen Gradienten, also einen Vektor im Raum, was für $\frac{\Delta C}{\Delta t}$, oder sagen wir lieber $\left(\frac{\partial C}{\partial t}\right)_x$ nicht gilt. Man könnte die Berücksichtigung von 3 Koordinaten verlangen. Wir werden jedoch einfacher in einer Dimension bleiben, ohne damit das Wesentliche

---

[1] Straub, W.: Pflügers Arch. **119**, 127 (1907). — [2] Heubner, W.: Verh. dtsch. pharmak. Ges. in Innsbruck 1924, I. — [3] Kahlson, G.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **169**, 44 (1933). — [4] Haag, H., u. G. Kahlson: Ebenda **169**, 56 (1933). — [5] Kahlson, G.: Verh. dtsch. pharmak. Ges. 1932, S. 84.

aus dem Auge zu verlieren. Die Konzentration ist eine Funktion der Zeit und des Ortes, also $C = f(x, t)$, deren totales Differential sich ergibt:

$$dC = \frac{\partial C}{\partial x} \cdot dx + \frac{\partial C}{\partial t} \cdot dt.$$

Straub-Kahlson stellen den ersten Summanden, Heubner den zweiten in den Vordergrund. Diese Feststellung scheint mir notwendig, um zu größerer Präzisierung zu gelangen, was wohl immer von Nutzen sein wird.

Um diese Verhältnisse mit der Dynamik des Lebens zu verbinden, bleibt es uns nicht erspart, bestimmte Vorstellungen über die Struktur des Lebenden zu entwickeln, selbst unter der Gefahr Trivialitäten zu sagen, ja ich würde sogar die Aussage wagen, daß die Thesen um so mehr für sich haben, je trivialer, je selbstverständlicher sie dem Forscher erscheinen, weil er sie selbst bei seiner Arbeit täglich stillschweigend benutzt. Damit will ich vor allen Dingen gleich anfangs davon abrücken, eine einmalige Originalität für das Gesagte beanspruchen zu wollen.

Es erscheint mir immer vorteilhaft, die eigenen Deduktionen an Gedanken der Größen unserer Vergangenheit zu entwickeln. Wenn wir dabei mit Analogien arbeiten, so ist das nichts Ungewöhnliches. Beruht die Entwicklung vieler Begriffe der Physik wie Kraft, Widerstand u. a. nicht auf psychologischen Erfahrungen, werden nicht manche Gesetze wie Ordnung von Molekülen mit groben Kugelmodellen gewonnen?

Für unseren Zweck scheint mir Leibniz geeignet: Mit seiner prästabilierten Harmonie huldigt er dem Gedanken einer absoluten Harmonie, und zwar einer Harmonie, die eine Wechselwirkung der einzelnen Teile unter sich nicht kennt, sondern an sich besteht, bedingt durch den Schöpfungsakt. Diesen Gedanken zu übertragen auf den Organismus wird uns fremdartig erscheinen, da wir gerade in der modernen Physiologie eine Verknüpfung der einzelnen Funktionen des Organismus erkennen, die der gegenseitigen Stützung der einzelnen Bausteine bei der Bildung eines Gewölbes gleicht. Leibniz ist in seiner Auffassung auch nicht konsequent geblieben, und um seine Gedanken unserer heutigen Auffassung verwandter zu fühlen, zitiere ich § 56 der Monadologie:

„Die Verknüpfung oder Anpassung aller erschaffenen Dinge an jedes einzelne und jedes einzelnen an alle übrigen hat nun aber zur Folge, daß jede einfache Substanz Beziehungen hat, die alle übrigen ausdrücken, und daß sie folglich ein lebendiger Spiegel des Universums ist."

Wir bewegen uns jedoch nicht im Bereich des Weltalls, sondern wollen uns auf den Mikrokosmos, den lebenden Organismus beschränken und hierbei von der Stufe des Gesamtorganismus zu der des Protoplasmas der einzelnen Zelle herabsteigen. Denn bei der Bildung des Begriffes eines Potentialgiftes hat Straub durchaus nicht — wie er selbst betont — anatomische, d. h. im Bereich der Histologie liegende Verschiedenheiten im Auge gehabt. Ebenso ist es selbstverständlich, daß wir bei dem heutigen

Stande der Physik mit Leibniz in der Materie kein unbegrenzt teilbares Kontinuum annehmen können. Es heißt nur den Gültigkeitsbereich seiner Vorstellungen abzuschätzen. Leibniz wies der lebenden Substanz die Funktion einer Maschine zu, nur daß diese ad infinitum teilbar, die Struktur einer Maschine behält. Monadologie, § 64:

„So hat z. B. der Zahn eines Messingrades Teile oder Stücke, die für uns nichts Künstliches mehr sind und nichts mehr an sich haben, was in bezug auf den Gebrauch, zu dem das Rad bestimmt war, die Maschine verrät. Die Maschinen der Natur aber, d. h. die lebendigen Körper, sind noch in ihren kleinsten Teilen bis ins Unendliche Maschinen."

Wir wissen aus der Histologie, daß die kleinsten Einheiten in der Zelle vorliegen, denn auch die neuen Viren sind an die Zelle gebunden für Entwicklung und Leben. Jetzt verfolgen wir den Gedankengang von Leibniz und denken uns die Teilung weiter in dem Bereich des Protoplasmas der einzelnen Zelle vorgenommenen. Wir sind uns dabei wohl der Mahnung von Schmidt[6] bewußt, „keine kleineren Lebenseinheiten als die Zelle — da unfruchtbar — anzunehmen, weil dadurch das Problem des Lebens nur auf kleinere Einheiten verschoben werde. Außerdem müsse Kern und Plasma zusammen wirken." Wir werden diesen Weg auch nicht beschreiten, wie sich sofort herausstellen wird.

Gebunden sind wir bei dieser Teilung durch allgemeine Lebensprinzipien. Und zwar befindet sich jeder Teil des Zellplasmas im dynamischen Gleichgewicht, sonst würde die Zelle nicht existieren können, obwohl sie durch Einwirkung von außen beträchtlichen Belastungsproben ausgesetzt wird, wie wir es gerade von der Toxikologie her täglich aufs neue erfahren. Wir haben zur Beschreibung der Vorgänge den Wortlaut des Le Chatelierschen Prinzips gewählt[7] mit dem ausdrücklichen Hinweis, daß eine Beziehung zum zweiten Hauptsatz der Thermodynamik nicht beabsichtigt sei. Uns lag daran, dem Begriff der Gegenregulation zu entgehen (siehe dazu [7a]), der außer philosophischen Gründen auch zur Erschwerung der quantitativen Betrachtung führt, wenn der Effekt auch vielfach als Gegenregulation in Erscheinung tritt. Wie makroskopisch die Organsysteme in dieser Hinsicht aufeinander einwirken, so werden auch die einzelnen Teile des Plasmas sich gegenseitig im Gleichgewicht zu halten suchen bzw. der eine wird einer Gleichgewichtsverschiebung des benachbarten entgegenarbeiten können und müssen. Wenn z. B. in irgend-

---

[6] Schmidt, W. J.: Ergebn. Physiol. usw. **44**, 27 (1941). Über Untersuchungen der Plasmastruktur siehe auch Zeiger, K.: Klin. Wschr. 1943, S. 201. — [7] Eichler, E., u. F. Barfuss: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 245 (1940). — [7a] Eichler, O.: Ebenda **184**, 82 (1936). Wir haben später gesehen, daß auch schon Rentz in einer Monographie: „Über phasische Ein- und Austrittswirkungen der Kokaingruppe am Gefäßpräparat und Versuch einer allgemeinen Wertung der phasischen Eingriffswirkungen überhaupt", Dissertation (med.) Riga 1930, ähnliche Gedankengänge zu verfolgen begann, ohne sie weiter auszubauen und experimentell zu verwerten, wie das von uns und Vollmer in verschiedenen Publikationen geschehen ist.

einer Zelle ein Hormon gebildet wird und dort in hoher Konzentration vorliegt, z. B. Adrenalin in der Nebenniere, muß in der Zelle eine Struktur vorliegen, die es verhindert, daß Adrenalin seine Wirkung entfalten kann, die ja — wie Cori gezeigt hat — auf einen primitiven, wohl in jeder Zelle vorhandenen Prozeß wie die Umsetzung der Kohlehydrate gerichtet ist. Wenn wir jetzt das Zellplasma — das Problem des Kernes umgehe ich absichtlich — in kleinere Parzellen geteilt denken, werden wir in jedem Teil die Gleichgewichtsregulation vorfinden, bis zu einer kleinsten Einheit. Diese könnte, um der Abkürzung wegen einen Namen zu geben, Monade oder Ultrazelle genannt werden.

Es ist dabei durchaus nicht notwendig, daß diese Einheiten räumlich fixiert sind, wie wir etwa bei Teilung des Organismus schließlich auf anatomische Zellen kommen, die als funktionelle Einheiten uns zwingen, die Teilungsebenen gerade an einer bestimmten Stelle des Raumes festzulegen. Es könnte durchaus sein, daß das gedachte Zellsystem in Form von Koordinatenebenen beliebig deformierbar ist, ohne die Definition der „Monade" zu berühren. Damit hätte die Formulierung von Leibniz einen möglichen Hintergrund erhalten: Wir können das Netz der Koordinaten auswerfen, wie wir wollen und finden immer eine Maschine, sofern die Maschen nicht eine gewisse Größe unterschreiten.

Auch in anderer Hinsicht werden wir einen Unterschied zwischen dem Zellaufbau des Makroorganismus und des Zellplasmas annehmen können. Während viele Organzellen nebeneinander bestehen, parallelgeschaltet sind, werden wir hier eine Einmaligkeit erwarten können. Zerstörung einer Leberzelle wird die benachbarte nicht beeinflussen. Ihr Gesicht ist zum Blutgefäßsystem gerichtet und nicht zur Nachbarzelle. Das wird für die „Monade" nicht gelten, die nach jeder Seite im Gleichgewicht sein muß, also darin das Gegenteil der Leibnizschen „fensterlosen" Monade darstellt. Wir werden für das Zellplasma häufig eine funktionelle Struktur, wie es das Zentralnervensystem nach der modernen Ganzheitspsychologie besitzt, annehmen dürfen.

Diese Monaden werden nun nicht die Gesamtheit der Zellfunktionen in sich begreifen, sondern erst in einem Zusammenwirken die wirklich lebendige selbständige Einheit darstellen. Diese Einheit ist dann auch in fremdem Milieu lebensfähig (extransplantierbar), die Monade wird zu ihrer Existenz der Mitwirkung der benachbarten Teile benötigen, wobei die Grenzflächen mehr oder weniger spezifiziert sind. Wenn — wie bei der amöboiden Bewegung — die einzelnen Flächen sich aneinander verschieben müssen, wird die Spezialisierung geringer sein müssen. Wir wollen diese Gedanken nicht weiter ausspinnen oder gar spezifizieren, sondern uns so allgemein wie möglich halten. Denn je genauer wir ein Gebäude zu beschreiben versuchen, desto willkürlicher und falscher wird es sein.

Auf das Plasma, dessen Struktur wir uns so vorzustellen suchen (um uns leichter zu verständigen mit der Abstraktion der Monade oder Ultra-

zelle), möge jetzt eine fremde Substanz (Gift oder Pharmakon) einwirken. An sich wird man erwarten müssen, daß jede Monade durch die Anhäufung einer ihr fremden Substanz in ihrer Funktion beeinflußt wird, aber ihre Empfindlichkeit wird untereinander im allgemeinen verschieden sein, häufig so verschieden, daß die gesamte durch ein Gift verursachte Funktionsänderung der Zelle von einer Monade aus verursacht wird.

Welche Möglichkeiten bestehen nun, wenn zwei Monaden die gleiche Empfindlichkeit besitzen, wie das leicht dann eintritt, wenn das gleiche Fermentsystem in beiden vorhanden ist und betroffen wird? Es sind drei Fälle zu unterscheiden, wenn nur eine Minderung der Funktion in Betracht gezogen wird. Eine Vermehrung gibt nichts prinzipiell Neues.

1. Der Effekt wird sich für das Gesamtgefüge in Form einer Verstärkung der Wirkung zeigen, d. h. die beiden getroffenen Elemente wirken an sich synergistisch. In diesem Falle wird für die Gesamtzelle eine höhere Empfindlichkeit herauskommen als für die einzelnen Teile.

2. Die beiden Elemente sind gar nicht miteinander verbunden, z. B. räumlich. Da die Zelle eine Einheit darstellt, die zu ihrer ungestörten Funktion aller Teile bedarf, wird dieser Fall auszuschalten sein und wenig modifiziert unter den Punkten 1 oder 3 auftreten.

3. Die Elemente arbeiten funktionell gegeneinander, etwa zur Aufrechterhaltung des dynamischen Gleichgewichts, z. B. ein Element produziert, das andere beseitigt eine im Stoffwechsel auftretende Substanz. Wenn beide gleich empfindlich sind, werden wir keinen Effekt von dem eindringenden Gift erwarten dürfen, wenn die Konzentration an beiden Stellen gleich ist. Nur wenn der Ausgleich noch nicht eingetreten ist, wird für die gesamte Zelle eine Veränderung eintreten, die eine Monade wird mehr, die andere wird weniger beeinflußt und das Stoffwechselprodukt wird sich anhäufen oder abnehmen, je nachdem an welcher Seite der Diffusionsstrom einsetzt, also Abhängigkeit vom $\partial C/\partial x$ nach der Definition des Potentialgiftes nach Straub-Kahlson, und zwar absolut abhängig von der Richtung des Diffusionsgefälles. Der partielle Differentialquotient wechselt das Vorzeichen nach der Richtung des Gradienten. Straub[1] legt Wert darauf, daß dieses Potentialgefälle gerade an der Zellmembran vorliegen muß. Der strenge Beweis steht noch aus. Man wird die Ausdehnung der Zellmembran nicht so groß annehmen dürfen, daß darin das gesamte System einer Monade Platz hat. Nach übermikroskopischen Messungen an Erythrocyten ist eine einfache oder doppelte Molekülbreite anzunehmen*.

* Bedeutende Funktionsänderungen können entstehen, wenn elektrisch geladene Partikel eintreten oder zur Beobachtung kommen, wie K'. Diese Möglichkeit verlangt aber elektrisch geladene Partikel, während wir hier allgemein von Substanzen, insbesondere von neutralen Partikeln sprechen. Teilweise ist die Empfindlichkeit so groß, z. B. gegen Acetylcholin, daß dessen elektrische Ladung gegenüber der spezifischen Wirkung der Substanz nicht in Frage kommt.

Jedoch kann man an der Zelloberfläche nach Peters[8] als Ausgangspunkt eine Cytoskeletstruktur annehmen, die die „Reize" von der Oberfläche durch die Zelle leitet. Nimmt man jetzt eine Beeinflussung der Oberfläche und im Innern der Zelle ein Element gegen das Gift empfindlich an wie oben entwickelt, dann kommen wir auf denselben Mechanismus wie bei rein innerer Einwirkung nach der Definition von Straub-Kahlson.

Nun wollen wir ein Bild nach der Heubnerschen Definition Wirkung $= \text{const} \frac{\partial C}{\partial t}$ suchen. Wenn eine Monade durch eine Substanz in bestimmter Weise beeinflußt wird, dann werden sofort in den benachbarten Elementen Gegenregulationen nach dem Le Chatelierschen Prinzip einsetzen. Diese werden um so vollkommener sein, je langsamer der Anstieg der Konzentration erfolgt, also nach dem Prinzip des Einschleichens vor sich geht. Besonders nach den wichtigen Untersuchungen von Schriever und seinen Mitarbeitern[9] wird man Einschleichen eines Reizes mit einer Depolarisation von Oberflächen entsprechend dem Lillieschen Kernleiter auffassen müssen, also die Beeinflussung eines labilen Gleichgewichts. Aber es ist interessant, daß auch für das Einschleichen ähnlich dem Le Chatelierschen Prinzip ein biologischer gegengeschalteter Prozeß („accomodation") verantwortlich gemacht wird, und zwar von einem so stark physikalisch-mathematisch orientierten Forscher wie A. V. Hill[10]. Wenn wir nicht annehmen, daß der hineindiffundierende Stoff auch den Prozeß der „Akkomodation" beeinflußt, womit die Anschauung sich der Straub-Kahlsonschen Definition näherte, dann wird die Diffusionsrichtung gleichgültig sein, $\frac{\partial C}{\partial t}$ ist kein Vektor im Raum. Danach würden sich die Potentialstoffe in folgender Reihe pharmakologischer Begriffe eingliedern:

ganz langsamer Vorgang: Gewöhnung;
mittlere Geschwindigkeit: Tachyphylaxie;
rasche Geschwindigkeit: Potentialgift nach Heubners Definition.

Nach der Vorstellung von Lullies[11] wird Acetylcholin dadurch als Potentialgift in Erscheinung treten (so daß ein Einschleichen bis zu einem gewissen Grade möglich ist), daß zunehmend ein zersetzendes Ferment, die Cholinesterase, aktiviert wird. Wie man sieht, ist das eine nur speziell entwickelte, nicht allgemeingültige Vorstellung.

Immerhin sehen wir bei unseren beiden Entwicklungen, daß die Potentialgiftwirkung allgemein auf eine Wirkung proportional der lokalen Konzentration zurückgeführt wurde. Diese Art der Giftwirkung ist die natürliche, wenn kinetische Gesichtspunkte eine Rolle spielen, und darin werden wir Clark[23] beistimmen. Ebenso wird man die Funktion zeit-

[8] Peters, R. A.: Proc. roy. Soc. B. **121**, 587 (1927). — [9] Schriever, H.: Z. biolog. **91**, 173 (1931); **93**, 123 u. 249 (1932); Pflügers Arch. **241**, 1 (1938); **242**, 730 (1939); **243**, 223 (1940). — [10] Hill, A. V.: Proc. roy. Soc. London B **119**, 305 (1936). — [11] Lullies, H., u. S. Meiners: Pflügers Arch. **246**, 525 (1943).

gebundener Gifte darauf zurückführen können und müssen. Dazwischengeschaltet ist dabei immer notwendig die Zellstruktur, also der biologische Prozeß, und gerade die Potentialgiftwirkung, wie unsere Entwicklungen sie dem anschaulichen Verständnis näher bringen, zeigt das ungeheuer Dynamische nicht nur der Giftwirkung, sondern des biologischen Geschehens überhaupt von einer anderen Seite, ebenso wie es Straub auch vorschwebte. Mediziner, deren Ausbildung vorwiegend auf anatomischer, statischer Basis, nicht auf der Physiologie ruht, werden diese Art schwer verstehen können.

Gremels[12] versuchte folgende Vorstellung der Potentialgiftwirkung. Der Effekt komme durch das Potential nur an der Zellmembran zustande, und zwar entsprechend der Durchtrittsgeschwindigkeit der einwirkenden Moleküle. Er schreibt: „Danach ist die Potentialgiftwirkung als eine Funktion der kinetischen Energie der durchtretenden Moleküle aufzufassen und sie wird deshalb auch in viel stärkerem Grade durch die Potentialdifferenz (Höhe des Konzentrationsunterschiedes) als durch die Stromstärke (absolute Stoffmenge pro Zeiteinheit) bestimmt." Hier werden Begriffe der Physik so großzügig benutzt, daß es fast zu sehr ins Elementare führen würde, wollte man etwas dagegen sagen. Aber auch die kinetische Energie der Moleküle wird nicht durch Konzentrationsunterschiede bedingt, sondern durch die Wärme, oder von außen angelegte Kraft (z. B. elektrische). Schon bei Fortführung durch einen Flüssigkeitsstrom sind die Verhältnisse nicht mehr eindeutig. Der Vorgang der Diffusion an sich verläuft nach statistischen Gesetzen.

Zum Nachweis einer Potentialgiftnatur gehört, wie mir scheint, der tatsächliche Nachweis des Giftes in der Zelle*. Denn erst dann ergibt sich zwangsmäßig, daß ein Ausgleich des Giftstromes, d. h. des Konzentrationsgefälles einhergeht mit dem Aufhören der Giftwirkung. Das ist bisher nur Straub[1] mit Muskarin an Aplysiaherzen gelungen. Aber selbst wenn dieser Nachweis geglückt ist, muß das noch nicht zwangsmäßig mit einer Potentialgiftwirkung identisch sein. Wir stellen hier ein jetzt schon übersichtliches Modell dar.

Wenn man irgendeine Substanz intravenös injiziert, wird eine Wirkung auf Atmung oder Herz resultieren, die rasch aufhört, obwohl bei der Analyse des gesamten Organismus die Substanz noch quantitativ aufgefunden werden kann. Die Entgiftung geschieht durch andere Verteilung, die anfangs wirkende dynamische Verteilung kann in die statische übergehen. Besonders deutlich gelingt die Demonstration mit Fluorid. Es verursacht etwa Überleitungsstörungen am Herzen. Diese klingen bald ab, weil das F' als Fluorpatit seine Ruhe im Knochen gefunden hat und dort zum Teil monatelang nachweisbar bleibt. Es könnte sich also selbst beim Giftnachweis in der Zelle um eine besondere Verteilung handeln (s. auch

[12] Gremels, H.: Asher-Spiro 42, 53 (speziell S. 91) (1940).

* Eine merkwürdige Art von Potentialgiftnatur schien beim isolierten Froschherzen vorzuliegen, das mit Pyrophosphat und Ferrocyanid behandelt wurde. Der Typ erwies sich als gleich, trotzdem wir wissen, daß beide Substanzen nicht in die Zelle eindringen, auch keiner Zersetzung unterliegen. Die Verhältnisse zeigen sich als Folge zweier mit verschiedener Geschwindigkeit verlaufender Reaktionen, die gegeneinandergeschaltet sind. Siehe eine demnächst in diesem Archiv erscheinende Publikation von Eichler, O., u. E. Wolff.

Clark [23]). Wenn die Außenflüssigkeit noch eine genügende Konzentration der Substanz enthält, wird dieser Einwand nicht möglich sein.

Eine weitere Möglichkeit besteht in der Freisetzung eines vorher gebundenen Gegengiftes, z. B. Oxalsäure büßt am Herzen seine Wirkung in gewissem Konzentrationsbereich ein, wenn Ca aus dem Gewebe mobilisierbar ist. Das kann auch bei Vermehrung des $K^{\cdot}$ in der Ringerlösung eines Froschherzens geschehen, so daß der Quotient $K^{\cdot}/Ca^{\cdot\cdot}$ der Norm angenähert wird. Zugleich vermag aber $K^{\cdot}$ in die Zelle gegen das Konzentrationsgefälle einzuwandern, wie die bekannten Untersuchungen von Mond und Netter zeigen. $K^{\cdot}$ wirkt anscheinend tatsächlich nur von der Membran der Zelle aus. Aber diese Wirkung ist keine Potentialgiftwirkung selbst, wenn wir das $K^{\cdot}$ innerhalb der Zelle mit Ernst gebunden ansehen.

Alle diese Dinge können hier nicht anders als in Andeutungen besprochen werden, sie zeigen aber, wie schwierig es ist, tatsächlich das Vorliegen eines Potentialgiftes zu beweisen. Ihre größte Bedeutung wird die Konzeption Straubs dann erlangen, wenn man daran gehen wird, Daten über die Struktur des Protoplasmas systematisch zu sammeln, Da es sich hier um räumliche Bedingungen der Giftwirkung handelt, werden gerade solche Substanzen als Sonden zur Prüfung geeignet sein.

Außer Straub [1] hat bisher nur Kahlson [3, 4] einen ernsthaften Beweis zu liefern gesucht. Die überaus zahlreichen Versuche von Gremels und seinen Mitarbeitern mit Acetylcholin setzten dessen Potentialgiftcharakter voraus anstatt es zu beweisen, worauf kürzlich besonders deutlich Heubner [13] hinwies. Jung [14] ging sogar so weit, den Potentialgiftcharakter des Acetylcholins überhaupt in Frage zu stellen, Lendle [14a] zeigte das für manche Funktionen.

Mit den Versuchen von Kahlson wollen wir uns jetzt vor allen Dingen beschäftigen, da sie — wie oben dargestellt — eine neue Definition des Begriffes zu bringen vermögen.

Die erste Versuchsreihe von Kahlson [5] zeigte, daß die Konzentrationen von Cholin auf das 100fache gesteigert werden müssen, um die gleiche Wirkung von außen, also vom Epicard aus zu erzielen, wie die einfache Konzentration aus der Kanüle selbst. Der Einmarschweg sollte maßgeblich sein nach obiger Darstellung. Nun sind diese Versuche nicht geeignet, die Heubnersche Definition der Potentialgiftwirkung $\partial C/\partial t$ zu widerlegen, denn unsere morphologischen Versuche [15] zeigen, wie von der Innenseite der Kanüle aus durch die schwammähnliche Struktur des Froschherzens das Myocard in wenigen Pulsationen mit der Giftlösung überschwemmt werden muß, während das von außen nur möglich ist, wenn der Konzentrationsgradient vielfach überhöht ist. Man kann auf diesem Wege über Farbstoffaufnahme sehr leicht zeigen, daß die Aufnahme von innen etwa 100mal so stark ist wie die Aufnahme von außen.

Wichtig sind die Versuche am Meerschweinchendarm mit Acetylcholin in der Versuchsanordnung von Trendelenburg [4]. Der Verlauf des

[13] Heubner, W., Pflügers Arch. **246**, 258 (1932). — [14] Jung, F.: Klin. Wschr. **1942**, S. 1030. — [14a] Lendle, L.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 519 (1941). — [15] Eichler, O.: Pflügers Arch. (im Druck).

Konzentrationsgradienten ist aber unübersichtlich. Denn wenn man auch in die Flüssigkeit des Reservoirs eine bestimmte Konzentration von Acetylcholin hineinbringt, dann bedeutet das keineswegs, daß die gesamte Flüssigkeitsmenge als Niveaugefäß für die Konzentration in Rechnung gestellt werden darf. Die überwiegende Menge der Flüssigkeit wird gar nicht am Diffusionsausgleich durch die Länge des Darmes und des anschließenden Glasrohres mit Schlauch teilnehmen können. Sogar die Flüssigkeit im nach dem Lumen führenden Glasrohr wird dabei nicht in Rechnung zu setzen sein, trotz der anscheinenden Durchmischung infolge der Peristaltik. Man weiß also nicht, wie groß die zur Verfügung stehende Menge ist und welche Konzentrationen tatsächlich vorliegen, besonders auch nicht in den Versuchen, bei denen von der Serosaseite aus eine höhere Konzentration einwirkte, dann ein Wechsel der Badeflüssigkeit ohne Acetylcholin erfolgte, so daß jetzt von innen nach außen ein Konzentrationsgradient anzunehmen ist. Die Schwierigkeit der Deutung wird durch die Beobachtung von Feldberg und Vartiainen[16] erhöht, nach der Acetylcholin in höheren Konzentrationen eine nikotinähnliche, lähmende Wirkung auf die Ganglienzellen besitzt. Für eine Peristaltik wird man wohl die Mitwirkung der Ganglienzellen der Darmwand verantwortlich machen müssen.

Methodik.

Unsere Versuchsanordnung sollte vor allem definierte Konzentrationsgradienten herzustellen gestatten. Wir entwickelten dabei die von Baur[17]

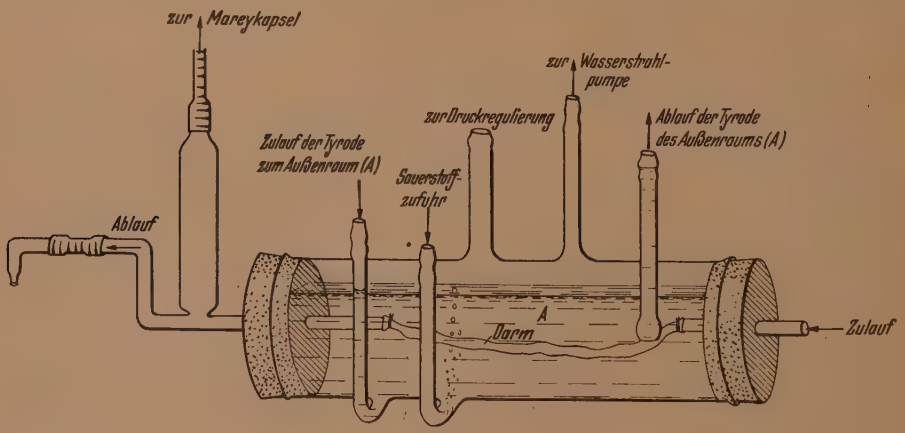


Abb. 1.

angegebene Methode bis zu der auf der Abbildung wiedergegebenen Form.

[16] Feldberg, W., u. A. Vartiainen: J. Physiol. (Brit.) **83**, 103 (1934) bzw. Feldberg, W., u. G. L. Brown: Ebenda **88**, 265 (1937). — [17] Baur, M.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **100**, 95 (1923).

Das Darmstück ist suspendiert in etwa 180 ccm Tyrodelösung A. Es muß etwas durchhängen, damit es nicht unter größere Längsspannung gerät, besonders wenn die Muskulatur tonisiert wird. In bestimmtem Bereich könnte dann durch Tonisierung die Peristaltik beeinflußt werden (s. dazu unten). Deshalb muß das rechte Zuleitungsrohr im Stopfen leicht beweglich sein. Durch den Darm fließt von rechts aus den üblichen Druckgefäßen in gleichmäßigem Strom von einigen ccm (meist 3,5 ccm) in der Minute die zu prüfende Lösung. Der den Strom veranlassende Druck wird durch O_2-Strom unterhalten, der durch die großen Vorratsgefäße durchperlt und nachher durch denselben Überlauf außerhalb abläuft. Dadurch ist es nicht notwendig, die Flüssigkeit durch die üblichen Wärmespiralen durchzuschicken, sondern die gesamte Anordnung befindet sich in einem großen, genau regulierten Wasserbad (siehe dazu die Nachschrift der Methodik). Nach Umschalten wird der Darm schon in wenigen Sekunden von der Lösung erreicht, da der Dreiwegehahn ganz kurz vor dem Zufluß angebracht ist, der schädliche Raum also kleiner ist. Dazu trägt noch bei, daß der Zufluß rechts durch eine Kapillare erfolgt, während der Abfluß breit gehalten wird. Da die peristaltische Welle vom Anfangsteil des Darmes ausgelöst wird, der unter etwas höherem Druck steht, wird die Giftzufuhr noch beschleunigt. Der Ablauf erfolgt links durch einen Überlauf. Es ist wichtig, daß das Druckgefälle nur unwesentlich bleibt, da andernfalls am Einlauf der Darm gebläht wird und von dort Peristaltikwellen ausgelöst werden können, die den Darm bald in das von Baur beschriebene Stadium der periodischen Aktivität bringen. Deshalb erfolgt von rechts ein kleiner Druck, von links durch den Überlauf ein kleiner Sog. Kurz vor dem Überlauf befindet sich eine Art Manometer, dessen Ausschläge, durch die Breite vergrößert, sich mit Lufttransmission auf eine Mareykapsel übertragen. Diese schreibt die Förderung des Durchstroms infolge peristaltischer Wellen auf.

Neben dem inneren Kreislauf kann der Darm in einen äußeren Strom von Tyrode oder Acetylcholinlösung gebracht werden. Im Gegenstrom kann die Außenlösung kontinuierlich, oder, wenn notwendig, schlagartig gewechselt werden. Das schlagartige Wechseln ist hier notwendig, wenn Acetylcholin außen herangebracht werden soll, da sonst der Konzentrationsanstieg zu langsam erfolgen würde.

Zugleich findet eine permanente Luftdurchperlung statt, so daß der Darm von innen mit der vorher gut O_2-gesättigten Lösung durchströmt wird, von außen außerdem mit dem Luftstrom fortgesetzt nicht nur für Durchströmung, sondern auch für O_2-Zufuhr gesorgt wird.

Um nach Bedarf den Darm, der bei einfacher Durchströmung ohne Bewegung ist, zur Peristaltik zu bringen, wird über dem Flüssigkeitsspiegel der Tyrode des Raumes *A* durch eine Wasserstrahlpumpe ein Vakuum erzeugt. Die Wasserstrahlpumpe saugt zugleich den zugeperlten Sauerstoff ab. Die Höhe des Vakuums wird durch einen Überlauf reguliert und durch Mareykapsel auf dem Kymographion registriert. Dieser Überlauf wird bei Reiz eingetaucht. Das Vakuum außen wirkt wie ein Druck innen und gestattet so die Herstellung registrierbarer Reize. Diese steigen dabei nicht linear, sondern exponentiell an, eine Reizmethode, die auch Schriever[9] in seinen Arbeiten an Nerven mit überzeugenden Argumenten bevorzugt. Die Geschwindigkeit des Druckanstiegs ist abhängig von der Wirkung der Wasserstrahlpumpe, dem zugeperlten Sauerstoff und schließlich der Größe des zu evakuierenden Raumes. Wir haben den Einfluß dieser Varianten nicht untersucht, sondern reizten meistens mit gleichen Drucken und ersehen aus der Größe der Antwort den Erfolg, folgen also nicht völlig der Anordnung von Trendelenburg, die Kahlson benutzte. Eine allmähliche Steigerung ist bei uns sehr schwer zu verifizieren. Durch eine bestimmte Marke machten wir die Stelle kenntlich, bis zu der das Vakuum erhaltende Überlaufrohr in die Flüssigkeit versenkt werden mußte. Diese Marke galt dann für den ganzen Versuch. Der Druck betrug fast

immer 11 mm (selten nur 5 mm). Für die Dauer des Reizes wählten wir die Zeit von anfangs 25 Sekunden, später immer 30 Sekunden.

Die Gleichmäßigkeit der Reizstärke konnten wir um so eher beibehalten, als die Größe des Erfolges von der Höhe des Druckes abhängt, wie beistehend abgebildete Kurven auf Abb. 2 lehren.

Es ist damit möglich, die Darmwand in einem definierten Konzentrationsgefälle zu halten. Wird innen mit einer bestimmten Konzentration von Acetylcholin durchströmt, dann ist der Durchfluß so stark, daß die Konzentration im Laufe der Zeit nicht abnehmen kann. Andererseits wird die Konzentration außen durch den Durchstrom einer reinen Tyrode auf einem verschwindenden Niveau gehalten. Ebenso konnten wir in den Außenraum (A) eine bestimmte Konzentration Acetylcholin geben und innen mit reiner Tyrode durchströmen. Wir haben den Verlauf des Diffusionsstromes analytisch nicht verfolgt, obwohl auch das ein reizvolles Problem ergeben könnte. Die Frage ist die, in welcher Zeit sich ein gleichmäßiges Gefälle durch die Darmwand eingestellt hat. Dann wird $\partial C/\partial t = 0$ werden, also nach Heubners Definition die Wirkung eines Potentialgiftes aufhören müßte, während ∂C pro ∂x auf einem konstanten Niveau bleibt. Den Zeitpunkt kann man bei der durchscheinenden Feinheit des Darmrohres mit wenigen Minuten Durchströmung ansetzen.

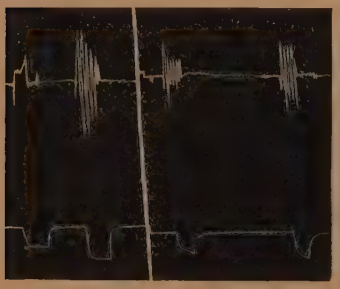


Abb. 2. Effekt, abhängig von der Reizgröße. Oben: Peristaltik, unten: Reiz.

Es liegen über die Diffusion von Acetylcholin nur sehr wenig übersichtliche Versuche vor[18], dazu an einem anderen Objekt (Froschhaut), aber die Diffusion erfolgte so rasch, daß die von uns angesetzte Zeit ausreichend erschien.

Die Versuche — teilweise auch nach Trendelenburgs Methode wie von Kahlson vorgenommen — erstreckten sich über die Zeit von Januar 1935 bis März 1936. Dazu wurden 163 Meerschweinchen verbraucht. Die Tiere wurden durch Urethan narkotisiert, so daß von jedem Tier mehrere Darmstücke gewonnen wurden. Die Zahl der Versuche beläuft sich auf viele Hundert, ein Arbeitsaufwand, der uns bei der Wichtigkeit der Probleme gerechtfertigt erschien.

Nachschrift zur Methodik über die Zersetzlichkeit von Acetylcholin.

Bei Versuchen über die Zersetzlichkeit des Acetylcholins durch beigemengte Substanzen kontrollierten wir die Abnahme der Wirksamkeit des Acetylcholins nach der von Kahlson angegebenen Methode am M. rectus abdominis des Frosches.

Wir hatten den Eindruck gewonnen, daß das uns von Hoffmann-La Roche gelieferte Acetylcholin* in dünnerer Lösung zersetzlicher war als die Acetylcholin-

[18] Wertheimer, E., u. H. Paffrath: Pflügers Arch. **207**, 254 (1925).

* Für die Spende sind wir der Firma zu Dank verpflichtet.

lösung, die wir uns aus Cholinchlorid-Merck durch Acylierung mit Essigsäureanhydrid selbst herstellten. Wir fragten uns, ob eine Verunreinigung eine Rolle spielte, die entweder die Zersetzung an der einen Stelle beschleunigte, oder in anderer Lösung hemmte. Es konnten z. B. Spuren von Alkohol in dieser Hinsicht eine Rolle spielen, aus dem die Umkristallisation erfolgte. Uns schien auch so, als ob Alkohol selbst in Konzentrationen von 10^{-5}—10^{-6} eine Wirkung in dieser Richtung entfaltete. Das Problem löste sich fast restlos in einer völlig unerwarteten Richtung. Die Prüfung wurde von uns nämlich in genau vorgezeichneten Parallelversuchen vorgenommen. Dazu dienten numerierte Glasgefäße. Maßgeblich für die Zersetzung erwies sich das Glas dieser Gefäße. An bestimmten Glassorten (nicht Jenaer Glas) konnte man bei Zimmertemperatur und schwachen Lösungen (10^{-6} bis 10^{-8}) schon in 1 Stunde deutliche Zersetzung beobachten. Dagegen half auch nicht Erhitzen der Gefäße in starker NaOH mit folgendem Auskochen in starker Säure und sonstige chemische Behandlung. Da Acetylcholin gegen Alkali besonders empfindlich ist, wird man eine Hydrolyse durch Alkalität annehmen dürfen. Diese kann aber nicht die ganze gepufferte Lösung betroffen haben, sondern die Zersetzung muß an der Glaswand selbst stattgefunden haben, denn eine Verschiebung der p_H in der Lösung ließ sich (mit Indikatoren) nicht nachweisen. Besonders deutlich war die Zersetzung in kleinen Flüssigkeitsmengen, wo für die Moleküle die Wahrscheinlichkeit größer war, an die Glaswand zu gelangen. Wenn nach Acylierung die Haltbarkeit zum Teil größer war (auch bei Beachtung dieser Fehlermöglichkeit) als ohne das, dann liegt das vielleicht an kleinen Mengen von Essigsäure, die in dem Reaktionsgemisch adsorbiert geblieben waren. Da Essigsäure oberflächenaktiv ist, könnte hier eine Erklärung für die Vorgänge gefunden werden, ebenso für die größere Haltbarkeit der konzentrierteren Lösungen.

Nach dieser Erfahrung vermieden wir es, in der Acetylcholinleitung zum Darm zu große Glasrohrlängen zuzulassen, insbesondere vermieden wir die Wärmeschlangen. Denn wir mußten damit rechnen, daß die Lösung in diesen einige Zeit stand, bis die Vorbereitung des Darmes zur Anwendung des Acetylcholins soweit vorgeschritten war. Dadurch, daß die Zulaufsröhre dazu noch eng war, konnte man sicher sein, daß in kürzester Frist frische Lösung aus dem Gefäß selbst in den Darm gelangte. Wir rechnen bei 3,5 ccm Durchlauf mit weniger als 1 Minute, aus den Rohren wurden nur 15—20 Sekunden benötigt. In der von uns angewandten Zeit konnte die Zersetzung aber keinesfalls mehr als die Hälfte betragen, selbst wenn man alles ungünstig rechnete.

Resultate.

Versuche zur Schwächung des Darmes durch häufige Reize.

Durch wiederholte Reize gelang es Kahlson am Trendelenburgschen Präparat, die Reizschwelle für die Peristaltik allmählich auf das Vielfache zu erhöhen, ja sogar sie zu völligem Schwinden zu bringen, besonders wenn wiederholt die Badeflsüsigkeit gewechselt wurde. Anfangs sank bei jedem Wechsel die Reizschwelle, um dann wieder zu steigen. Wir selbst haben diese Wirkung in vielfachen Versuchen bestätigen können. Bei unserem Präparat mit fortlaufendem Durchfluß, den wir vorerst nur an der Innenseite vornahmen, konnte eine Minderung der Peristaltik in Versuchen an 22 Darmstücken dieser Art nur sehr schwer erzielt werden.

Auf Abb. 3 zeigen wir die Gleichmäßigkeit der Antwort, obwohl die Reize jede Minute erfolgten und je 25 Sekunden andauerten. Dieser Darm

war vorher schon zehnmal in derselben Weise gereizt worden im Abstand von 2 Minuten seit dem Beginn des Versuchs. Auch mit dem größeren Abstand waren die Reizerfolge nicht anders. Die Auswaschung einer von Kahlson angenommenen Substanz erfolgte bei uns in beiden Richtungen, vorwiegend aber nach innen, d. h. dem Darmrohr. Wechsel der Außenflüssigkeit machte keinen Unterschied. Bei anderen Versuchen haben wir 50mal im Abstand von 2 Minuten gereizt, ohne daß zwangsläufig eine Minderung der Aktivität eingetreten wäre.

Doch gelingt es durch die Änderung der Längsspannung leicht, die Peristaltik zu vermindern. Wie in unseren methodischen Ausführungen

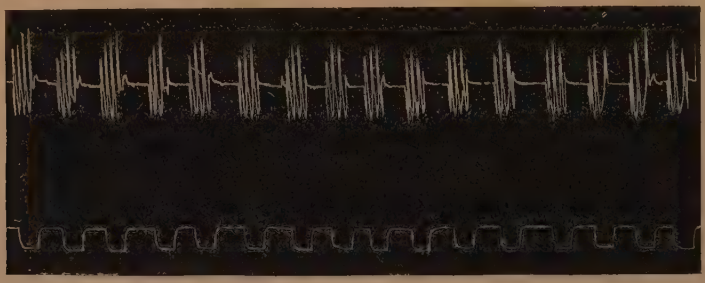


Abb. 3. Reiz jede Minute 25 Sekunden lang. Schon vorher zehnmal alle 2 Minuten gereizt.

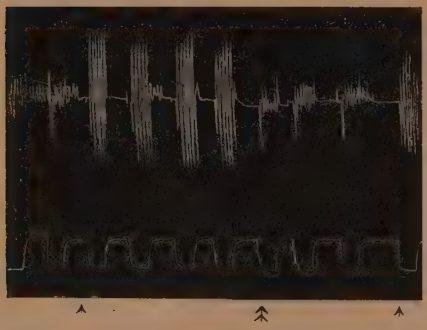


Abb. 4. Abhängigkeit der Amplitudengröße von der Längsspannung des Darmes. Beim ↟ Darm straffer gezogen, beim ↠ Darm entspannt.

dargestellt, ist der Darm zwischen zwei festen Punkten ausgespannt und hängt in der Tyrodeflüssigkeit schwimmend in leichtem Bogen nach unten. Wird die Spannung des Darmes verändert, dann hat das einen tiefgehenden Einfluß auf die Peristaltik, wie Abb. 4 zeigt. Die anfänglichen peristaltischen Wellen sind klein (zufällig den Reiz überdauernd), sobald der Darm straffer gezogen wird, setzen große Amplituden ein, die nach Lockerung sofort verschwinden, um sofort bei Straffziehen wieder zu erscheinen. Dieses Phänomen haben wir systematisch untersucht und es bei keinem Darm vermißt. Es ist nicht leicht von der Ursache eine Vorstellung zu gewinnen, da man immer von der Unabhängigkeit der Längs- und Ringmuskeln spricht. Bei unseren Versuchen war dabei keine wesentliche Längsspannung im Rohr vorhanden. Auf der Kurve ist ersichtlich, daß ein permanenter Reiz gerade bei dem straffen Darm gar nicht eintrat, sondern eher bei dem schlaffen Darm. Dieser Dauerreiz könnte verständlich sein, wenn der Widerstand für die

durch das gebogene Darmrohr abfließende Flüssigkeit größere wäre und am Anfang der Darm dadurch eine Dehnung erführe.

Eine Beziehung zu den geläufigen Vorstellungen über Darmmotilität ließ sich auf folgende Weise gewinnen. Durch die Spannung erfolgt nicht nur eine geringe Verlängerung (diese kann nur klein sein nach der Versuchsanordnung), sondern auch eine Querkontraktion des Darmes (Poissonsche Konstante der Elastizitätslehre). Dadurch wird der Widerstand größer und am Anfang des Darmes der Innendruck erhöht. Die Auslösung der Peristaltik würde demnach nur der Druckerhöhung am Anfang des Darmes bedürfen.

Wenn wir den Darm unter der größeren Spannung reizten, dann erfolgte die Ermüdung leichter, wenn sie aber eintrat, dann führte sie zu Zuständen, die durch Acetylcholin fast nie beeinflußt wurden. Insbesondere

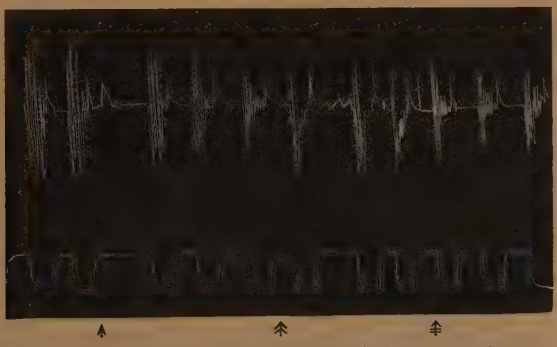


Abb. 5. Verschlechterung der Peristaltik durch Acetylcholin in der Innenlösung. Beim ↟ Acetylcholin $1:100 \cdot 10^6$, beim ↟ Acetylcholin $1:50 \cdot 10^6$, beim ⇞ Rückkehr auf reine Tyrode.

konnten wir Verminderung der Peristaltik durch leichtes Entspannen des Darmes durch Acetylcholin nicht beseitigen, selbst durch Konzentration bis 10^{-7} nicht. Dieses Resultat ist deswegen wichtig, weil damit der Einwand entfällt, daß durch Zunahme des Tonus indirekt die Peristaltik geändert wird. Kahlson legte in seinen Versuchen auf die Beeinflussung der Peristaltik und nicht des Tonus der Längsmuskeln den entscheidenden Wert.

Wir haben insgesamt zweimal eine Besserung beobachtet, und zwar einmal derart, wie wir sie nachher nach Atropin ausführlicher beschreiben werden. Einmal kam es nach der Umschaltung auf Acetylcholin fürs erste kurz zu einem etwas besseren Erfolg, anschließend aber erfolgte eine Verschlechterung. Wenn diese Verschlechterung über den Ausgang nicht erfolgt wäre, könnte man die Wirkung etwa entsprechend Heubners $\partial C/\partial t$ auffassen. Denn dieser partielle Differentialquotient wird bei unserer Methode nur am Anfang der Durchströmung von Null verschieden sein. Die anschließende Verschlechterung nach Acetylcholin tritt gerade hier

gar nicht so selten in Erscheinung und ist auch mit anderer Vorbehandlung zu sehen.

Wir zeigen auf Abb. 5 wie schon 10^{-8} Acetylcholin die Peristaltik verschlechtert. Bei Verdoppelung der Konzentration schreitet der Verfall fort und läßt sich bei Rückkehr auf frische Tyrode teilweise beseitigen, als Zeichen dafür, daß nicht der normale Rückgang der Peristaltik hier zu einer Täuschung geführt hat. Diese Art der Verschlechterung der Peristaltik durch Acetylcholin haben wir gelegentlich bei allen Varianten unserer Versuche beobachtet. Wir können dabei noch nicht einmal sagen, daß diese Störung systematisch mit der Konzentration angestiegen wäre, jedenfalls in unserem Konzentrationsbereich, der 10^{-7} nie überschritt. Besonders schwer geschädigte Stücke reagierten auf diese Weise. Doch kann man diesen Grund für den Erfolg auf Abb. 5 nicht verantwortlich machen.

Versuche mit Morphin (12 Darmstücke).

Auch mit Morphin läßt sich nicht so leicht eine prompte Lähmung der Peristaltik erreichen, wie man das nach den Angaben bei anderen

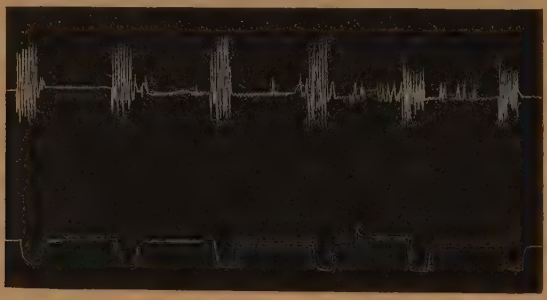


Abb. 6. Beim ↟ Morphin $1:50 \cdot 10^6$ innen, beim ↞ dieselbe Konzentration außerdem in der Außenlösung.

Präparaten annehmen sollte. Besonders wenn wir Morphin nur der Innenflüssigkeit zusetzten, konnte man selbst bei Konzentrationen von 10^{-7} trotz längerer Einwirkung nicht viel erreichen. Konzentrationen 1 : 10000 (1 ccm) in den zuführenden Schlauch gegeben, führten auch nicht weiter. Die Konzentrationswelle lief wohl zu rasch ab, die „Nutzzeit" war noch nicht erreicht. Auf Abb. 6 können wir eine der Ursachen ersehen. Die Konzentration $1:50 \cdot 10^6$ nur der Innenflüssigkeit zugesetzt, beeinflußt die Peristaltik nicht, sondern erst als diese Lösung auch von außen zugeführt wurde, gelang eine Verkleinerung. Es ist dabei die Durchwanderungsrichtung gleichgültig. Wenn wir Morphin nur von außen einwirken ließen, dann war das Verhältnis dasselbe. Wir müssen annehmen, daß durch die äußere Lösung das von der Innenseite eingedrungene Morphin rasch fortgewaschen wird, so daß also nicht die notwendige Konzentration an der

Stelle der Wirkung erreicht wird. Es ergibt sich also die rasche Durchwanderung von Morphin und zugleich, daß es nicht in den Geweben fixiert wird.

Wir konnten diesen Effekt auch mit den anderen Alkaloiden beobachten und haben von da an den Darm von außen und innen in die betreffende Lösung gebracht.

Auf Abb. 7 zeigen wir den Verlauf einer Acetylcholinwirkung, nach der der Darm durch $1:50 \cdot 10^6$ Morphin geschädigt war. Ersichtlich ist das allmähliche Zunehmen der Wirkung. Diese bleibt dann auf gleicher Höhe. Offenbar ist der Effekt nicht mit $\partial C/\partial t$ vereinbar.

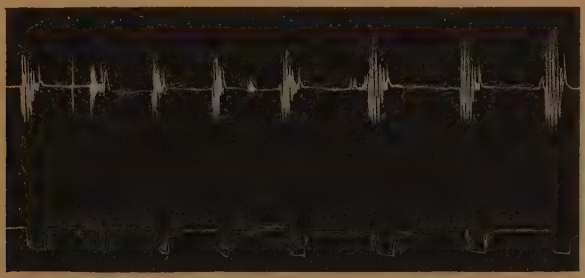


Abb. 7. Lähmung der Peristaltik durch Morphin. Beim ↑ $1:50 \cdot 10^6$ Acetylcholin innen.

Versuche mit Papaverin (6 Darmstücke).

Konzentrationen 1 : 500000 lassen den Darm in guter Aktivität, 1 : 300000 ist etwa die Grenze der Anwendbarkeit, aber der Verfall der Peristaltik ist meist sehr rasch und nicht mehr durch Acetylcholin beeinflußbar. In einem Versuch wurde durch 1 : 500000 Papaverin eine partielle Reduktion erreicht. Hier führte $1:50 \cdot 10^6$ Acetylcholin zu rascher Verschlechterung.

Versuche mit Atropin (mit über 100 Darmstücken).

Hier wurden besonders ausführliche Versuche angestellt, weil nach Oettingen[19] sowohl Acetylcholin als auch Atropin von derselben Stelle, dem Auerbachschen plexus aus, einwirken sollen.

Wie die von uns hauptsächlich angewandten Konzentrationen an sich einwirken, möge folgende Tabelle illustrieren:

Konzentration	Lähmung	Ohne Wirkung
1 : 800 000	1 schwach	4
1 : 500 000	33	10
1 : 250 000	23	0

Die Lähmung gelang häufig nicht unmittelbar, sondern manchmal erwies sich eine längere Einwirkungszeit als vorteilhaft, besonders in den niederen Konzentrationen. In einigen Versuchen verwandten wir Atropinsulfat nur innen und machten dieselbe Beobachtung, wie oben beim Morphin dargestellt, daß auch höhere Konzentrationen,

[19] Oettingen, W. F. v.: Heffters Handb. exper. Pharmak., Ergänzungswerk 3 (1937).

z. B. 1 : 250000, nur bei Einwirkung von beiden Seiten ihre volle Wirkung entfalteten. 1 : 100000 führte auch einseitig zum Erfolg.

Wenn auch eine Auswaschung mit Atropin anscheinend etwas schwerer zu erreichen ist als mit Morphin, wird man sich fragen dürfen, wie die von Straub und Muñoz-Fernandez [20] gefundene langdauernde und konstante Wirkung des Atropins beim ganzen Meerschweinchen sich mit dem Schicksal des Atropins im Gesamtorganismus zur Deckung bringen läßt. Das ist nicht einfach abzuschätzen. Es wird von ihnen die Grenzdosis mit 10 γ/kg Atropinsulfat angegeben, das würde bedeuten eine Konzentration von 10^{-8}, also etwa 100mal so hohe Verdünnungen, wie sie bei unserer Versuchsanordnung als Grenzkonzentrationen anzunehmen sind. Nun sind solche Konzentrationsberechnungen am ganzen Tier durchaus suspect, da man nicht weiß, ob alle Organe sich an der Speicherung eines Medikamentes gleichmäßig beteiligen. Wenn wir das vernachlässigen, befinden wir uns hier im Dosierungsbereich, der den von Straub angewandten höheren Dosierungen ent-

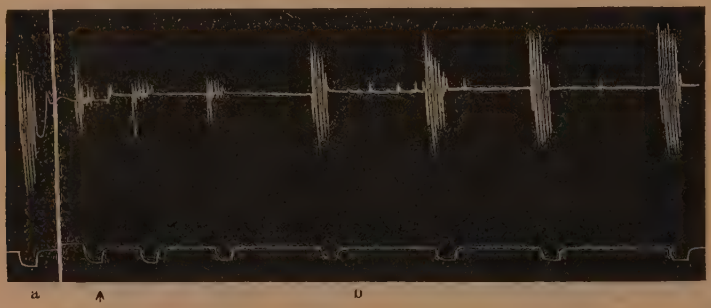


Abb. 8. a) Peristaltik vor Atropin, b) 8 Minuten nach Atropin 1 : 500000. Beim ↑ Acetylcholin $1 : 100 \cdot 10^6$ außen. Reiz 30 Sekunden, Druck 11 mm. Erster Reiz 30 Sekunden nach Abschluß der Umfüllung. Zweiter Reiz 2 Minuten nach Beginn des ersten, dritter 3 Minuten nach Beginn des zweiten.

spricht, die am ganzen Tier auch noch nicht den Ablauf der Peristaltik, sondern nur die Reizschwelle verändern. Um die Resultate einander anzunähern, ist darauf hinzuweisen, daß die Bedingungen nach unserer Versuchsanordnung für die Peristaltikwirkung besonders schwer sind, weil durch die kontinuierliche Durchströmung am Anfangsteil des Darmes immer ein gewisser Anfangsdruck vorhanden ist. Vom Anfangsteil des Darmes erfolgt demnach die Auslösung der Peristaltik, weil er unter etwas höherem Innendruck steht, während der zusätzliche negative Druck von außen den gesamten Darm gleichmäßig betrifft.

Von unseren zahlreichen mit Atropin erhaltenen Kurven wählen wir einige aus, die uns weitere Einblicke in den Wirkungsmechanismus geben können.

Auf Abb. 8 sieht man, wie nach der Zufuhr von Acetylcholin $1 : 100 \cdot 10^6$ von außen her die Peristaltik sich allmählich bessert. Die Einfüllung im Außenraum erfolgte rasch, wie der kleine Ausschlag der Kurve anzeigt, da sich kleine Druckschwankungen nicht ganz vermeiden lassen. Da die Einwirkung also unmittelbar vor sich geht und $\partial C/\partial t$ mit der Zeit abnimmt,

[20] Straub, W., u. E. Muñoz-Fernandez: Naunyn-Schmiedebergs Arch. 170, 26 (1933).

muß man den Verlauf als unvereinbar mit dieser Definition der Potentialgifte ansehen. Es gelingt sogar, die Peristaltik vor der Atropinbehandlung für lange Zeit herzustellen, natürlich nicht „für dauernd", denn allmählich erfolgt schließlich doch ein Rückgang.

Nach diesen Kurven würde man zu der Definition von Kahlson Zuflucht nehmen müssen, d. h. die Wirkung ist abhängig von $\partial C/\partial x$, da hier immer eine gewisse Größe erhalten bleibt. Genau so wie Kahlson, aber mit definierten Bedingungen, kommen wir zu dem Experimentum crucis. Wird bei Zufuhr von einer Seite auf der anderen Seite die gleiche Konzentration hergestellt, dann muß der Gradient $\partial C/\partial x$ direkt vernichtet werden.

Von den zahlreichen uns zur Verfügung stehenden gelungenen Versuchen wählen wir zwei Beispiele aus. Die auf diesen Kurven erhaltenen

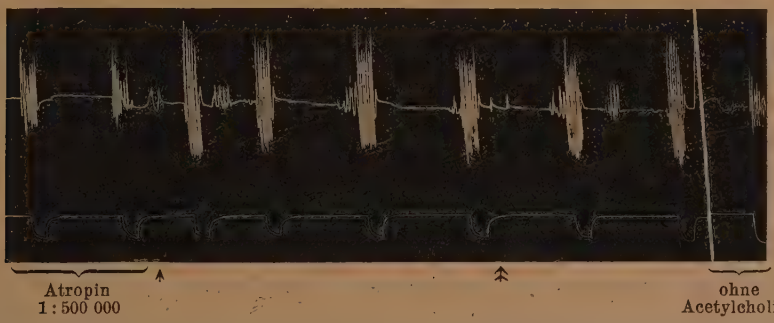


Abb. 9. Atropin 1 : 500000. Beim ↑ Acetylcholin $1 : 10^9$ außen, beim ↑↑ außerdem dieselbe Konzentration innen. Letzter Teil der Kurve Peristaltik ohne Acetylcholin. Zusatz von außen mit Vernichtung des Potentialgefälles verursacht keine Änderung der Peristaltik.

Resultate haben wir immer erhalten. Auf Abb. 9 wird zuerst die Konzentration $1 : 10^9$ Acetylcholin außen zugegeben. Die günstige Wirkung setzt sofort ein, ein Typ der Wirkung, den wir seltener gesehen haben. Gegenüber Kahlson ist darauf hinzuweisen, daß hier diese niedrige Konzentration auch in der Richtung Serosa→Mucosa zur Geltung kam. Nach 9 Minuten einseitiger Einwirkung wird die Innendurchströmung auf dieselbe Konzentration von Acetylcholin eingestellt. Trotzdem bleibt der Effekt voll und ganz erhalten. Rückkehr zur Atropinlösung allein führt noch einmal vor Augen, welche Peristaltik ohne Acetylcholin als Grundlage anzusehen ist.

Auf Abb. 10 führen wir dasselbe nochmals vor, jedoch wird Acetylcholin erst innen zugeführt, dann außen zugefügt. Außerdem sehen wir den Typ des üblichen Ansteigens der Wirkung. Der Anstieg benötigt bis zum Maximum manchmal bis zu 20—25 Minuten, kann also keinesfalls mit einem allmählichen Anstieg der Konzentration in der Darmwand selbst gleichgesetzt werden. Dieser muß schon nach wenigen Minuten beendet sein.

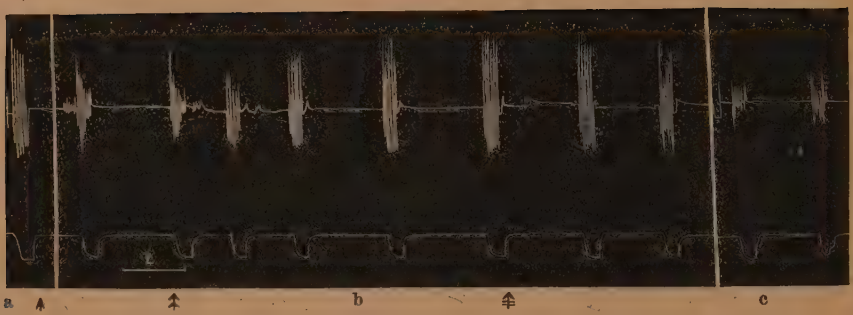


Abb. 10. a) Vor Atropin, b) beim ↟ 1 : 250000 Atropin, c) nach Atropin 1 : 250000 ohne Acetylcholin, beim ↟ $1 : 100 \cdot 10^6$ Acetylcholin innen, beim ⇞ dieselbe Konzentration außen. Keine Verminderung der Peristaltik trotz Zerstörung des Potentialgefälles.

Diskussion.

Nach diesen Resultaten müssen wir uns die Frage vorlegen, ob hier die Unterschiede gegenüber Kahlsons Befunden auf die Methodik zurückzuführen sind. Wir haben zuerst in sehr zahlreichen Versuchen genau nach den Trendelenburgschen Methoden wie Kahlson gearbeitet und vielfach dieselben Befunde erheben können, aber doch noch nicht einmal in der überwiegenden Zahl der Versuche. Auch hier wurde bei uns manchmal der Anstieg der zur Auslösung der Peristaltik notwendigen Schwelle erst in allmählicher Folge beobachtet. Wir geben einen Versuch kurz wieder.

Die Reizschwelle war allmählich auf 28 mm gestiegen. Zusatz von $1 : 10^8$ Acetylcholin. Bei Prüfung alle 1—2 Minuten ergaben sich folgende Grenzdrucke: 17, 20, 11, 15, 11 mm. Wechsel auf Tyrode führt zu rascher Erhöhung der Grenze, obwohl die Aufnahme nach innen jetzt zu einem umgekehrten Potential mit günstiger Wirkung führen müßte.

Wir haben beobachtet, daß Acetylcholin auch mit der Methode nach Trendelenburg bei längerer Einwirkung einen reversiblen Zustand der Lähmung hervorbringen kann. Auswaschung führte dann zur Besserung, ähnlich wie bei Campher am Froschherzen. Das ist bei dem Versuch bei Kahlson, besonders beim Physostigmin deutlich, wo die Zerstörung des Acetylcholins durch die Esterase verhindert wird. Hier müßte die Auswaschung besonders günstig wirken. Dieser Versuch scheint aber zu zeigen, daß eine Zersetzung des Acetylcholins mit Bildung von Essigsäure an bestimmten Orten nicht für eine Wirkung verantwortlich gemacht werden kann. Wir werden nach der nikotinähnlichen Wirkung nach Feldberg und Vartiainen[16] bei längerer Einwirkung von Acetylcholin fragen, die in ihren Versuchen dazu führte, daß die Zellen der Halsganglien schließlich nicht erregt, sondern gelähmt wurden. Wenn wir diese Möglichkeit wirklich in Erwägung ziehen, werden wir in der besseren Wirkung der Einmarschrichtung Mucosa → Serosa darin den Grund sehen, daß die angewandten

Konzentrationen wegen der geringen absoluten Mengen von Acetylcholin sich rascher zerstreuten. Wir möchten dieses nur als Möglichkeit herausstellen. Wir haben im Verlauf der Beschreibung unserer Versuche wiederholt auf diese genau entgegengesetzte, d. h. lähmende Wirkung von Acetylcholin hingewiesen, ohne daß wir die Sicherheit solcher Befunde in zu hohen Konzentrationen sehen konnten. Dieser Effekt muß eine große Streuungsfunktion besitzen, so daß selbst in unseren doch zahlreichen Versuchen kein System zu erkennen gewesen ist.

Damit kommen wir auf die Frage, welche Wirkung dem Acetylcholin nun zuzuschreiben ist.

Nach unseren Versuchen wird man versuchen, eine Wirkung, die in gewissem Bereich mit der Konzentration steigt — d. h. bevor ein nikotinähnlicher Effekt in Erscheinung tritt —, annehmen zu wollen. Jedoch liegen die Verhältnisse nicht einfach, da gerade bei Vergleich mit den anderen von uns hier gegebenen Substanzen, besonders Morphin, aber auch Atropin, auffällig ist, daß die Wirkung auch in Grenzkonzentrationen bei einseitiger Zufuhr auftritt, also nicht einer so raschen Auswaschung unterliegt. Vielleicht spielt tatsächlich ein Vorgang eine Rolle, wie er von Brecht[21] bei Lullies angedeutet wird, nämlich die Reaktion des Acetylcholins mit der Cholinesterase und die Wirkung des Komplexes. Diese Vorstellung erscheint doch etwas dunkel, daher möchten wir sie mit einigen Sätzen weiterzuführen versuchen.

Wir müssen annehmen, daß im normalen Zellgeschehen die Acetylcholinmoleküle immer nur eine kurze Weglänge zurücklegen, bis sie zu einer Esterase gelangen, da sonst die intensive Wirkung zu leicht an Stellen gelangen kann, deren Beeinflussung nicht im Plan des Reizes liegt. Um eine Ausbreitung mit Sicherheit zu verhindern, würde die Esterase direkt neben dem Bildungs- und Wirkungsort lokalisiert werden. Mit Sicherheit würde dann der Effekt lokalisiert, wenn nicht Acetylcholin, sondern der Komplex mit der Esterase vor der Zersetzung — d. h. das schon deformierte Kraftfeld des Acetylcholins, das nur kurze Zeit bestehen kann — als wirksam angesehen würde. Wenn ein hoher Vagustonus besteht, wird die Menge der verfügbaren Esterase regulativ vermehrt sein, ähnlich wie Lullies[22] es für das Unwirksamwerden einschleichender Konzentrationen annimmt (was noch nachzuweisen wäre), daraus folgte die geringere Wirksamkeit zusätzlich gegebener Acetylcholingaben, ohne eine Potentialgiftnatur anzunehmen. Diese Vorstellung würde erklären, warum zur Wirkung des Acetylcholins auch die Strömung (d. h. Nachströmung) des Acetylcholins — also ein Potential — notwendig ist, ohne daß ein Potentialgift vorliegt. Aber keine Erklärung ergäbe sich dadurch für die sensibilisierende

---

[21] Brecht, K.: Pflügers Arch. **246**, 553 (1943). — [22] Lullies, H., u. L. Meiners: Ebenda **246**, 525 (1943).

Wirkung von Physostigmin. Diese müßte gerade die Bildung des Acetylcholinesterasekomplexes hemmen, wenn nicht etwa Hemmung der Spaltung des Komplexes als Ursache der Fermentlähmung anstatt Verhinderung der Bindungsphase einzusetzen wäre. Um hier weiterzukommen, benötigte man wiederum Hilfshypothesen, wäre also auf absteigender Bahn ungebundener Phantasie, solange nicht das eindeutige beweisende Experiment vorliegt, das nicht von sich aus Hypothesen über den Wirkungsmechanismus anderer Substanzen heranzieht, so daß schließlich ein luftiges, man könnte fast sagen naturphilosophisches Gebäude aufgeführt wird.

Die Potentialgiftnatur von Acetylcholin ist auch aus einigen Angaben der Literatur unmöglich anzunehmen, z. B. rechnet Gremels (a. a. O. S. 89), daß zur Erregung einer Zelle 2,1 Moleküle notwendig sind. Wie ist das noch mit der Vorstellung eines Potentials vereinbar? Ein Potentialgefälle aus 2 Molekülen?

Wenn wir die am Eingang gegebenen anschaulichen Vorstellungen hier weiter benutzen, muß ein wirklicher „Strom" von der Notwendigkeit einer gewissen Konzentration abgesetzt und dargetan werden. Hier seien an einem möglichst einfachen Modell die Verhältnisse kurz deutlich gemacht.

Aus einem großen Reservoir mit fixierter Konzentration (C) diffundiere durch eine Membran in ein kleines Gefäß mit dem Volumen (V) und der Diffusionsfläche der Einheit eine von der Konzentrationsdifferenz ($C-c$) abhängige Menge Substanz (M) ein. Den Konzentrationsverlauf in der Membran wollen wir nicht beachten, jedoch nehmen wir an, daß beiderseits eine Durchmischung derart stattfindet, daß in den Gefäßen die Konzentration bis an die Grenze der Phase jederzeit konstant bleibt. Wenn wir die diffundierende Menge (M) proportional der Diffusionskonstante K (in der der Diffusionsweg enthalten ist) und der Konzentrationsdifferenz ($C-c$) setzen, erhalten wir die einfache Differentialgleichung

$$\frac{dM}{dt} = K(C-c). \tag{1}$$

Da c = der diffundierten Menge M direkt und dem Volumen umgekehrt proportional st, also $c = M/V$, erhalten wir

$$\frac{dM}{dt} = K\left(C - \frac{M}{V}\right), \tag{1a}$$

eine Gleichung, die leicht integrierbar ist. Die Lösung ergibt die bekannte Relation

$$M = C\,V\left(1 - e^{-\frac{K}{V}t}\right). \tag{1b}$$

Die Konzentration strebt also exponentiell dem Gleichgewicht zu: Dieses besteht in Gleichverteilung, da $M/V = c = C$ wird.

Dieses wäre das Verhalten, wenn die diffundierende Substanz nicht zersetzlich ist, es bestehen also einfache und übersichtliche Verhältnisse. Wir gehen jetzt einen zweiten Schritt und nehmen an, daß in dem Volumen V eine Zerstörung der Sub-

stanz entsprechend Hydrolyse von Acetylcholin zustande kommt. Die Zerstörung erfolge proportional der Konzentration mit dem Faktor a. Die Gleichung lautet jetzt:

$$\frac{dM}{dt} = K(C - c) - ac = K\left(C - \frac{M}{V}\right) - a\frac{M}{V}. \qquad (2)$$

Die Lösung ergibt sich direkt mit

$$\frac{M}{V} = c = \frac{K}{K+a} \cdot C\left(1 - e^{-\frac{K+a}{V}t}\right). \qquad (2a)$$

Das Gleichgewicht wird rascher erreicht und entspricht einer Proportion der angebotenen Konzentration

$$c = \frac{K}{K+a} \cdot C = \frac{1}{1+\frac{a}{K}} \cdot C,$$

d. h. die Konzentration ist immer kleiner als in der Außenlösung. Es besteht also immer ein Potential von außen nach innen. Muß also eine bestimmte Konzentration innerhalb des Raumes V zu einer bestimmten Wirkung verlangt werden, dann muß das Potential hoch sein, von außen muß Substanz nachgeliefert werden. Ebenso wird die Diffusionskonstante von Bedeutung sein. Das Potential muß erhöht werden, um eine bestimmte Konzentration in dem Innenraum zu erreichen. Die Verhältnisse werden also immer unübersichtlich werden, da wir weder über K noch a eine Aussage machen können.

Wir gehen einen dritten Schritt und sehen, daß die Zerstörung der fraglichen Substanz nicht proportional der Konzentration stattfindet, sondern daß der Raum eine bestimmte Kapazitätskonstante (b) der Zerstörung besitzt, auf die Volumeneinheit bezogen b/V. Die Gleichung lautet jetzt:

$$\frac{dM}{dt} = K(C - c) - \frac{b}{V} = K\left(C - \frac{M}{V}\right) - \frac{b}{V}. \qquad (3)$$

Die Lösung ergibt sich:

$$M = \frac{(K \cdot C \cdot V - b)}{K} \cdot \left(1 - e^{-\frac{K}{V}t}\right) \text{ bzw. } \frac{M}{V} = \frac{1}{K}\left(KC - \frac{b}{V}\right)\left(1 - e^{-\frac{K}{V}t}\right). \qquad (3a)$$

Ersichtlich ist, daß das Gleichgewicht rascher erreicht wird. Vor allem aber ist wichtig, daß die Konzentration in bestimmtem Bereich auf der Größe 0 gehalten wird. Erst wenn die Konzentration außen eine gewisse Höhe überschreitet oder die Permeabilität erhöht wird, wird die erste Klammer einen definitiven, 0 übertreffenden Wert erreichen. Das bedeutet, daß dann, wenn in den nun verlängert gedachten Diffusionsweg ein Raum V von diesen Eigenschaften eingeschaltet ist, ein Konzentrationsbereich vorhanden sein wird, in dem die zersetzliche Substanz gar nicht mehr durchgelangt. Wir haben dafür im Histamin ein die Verhältnisse charakterisierendes Beispiel. Histamin trifft, wenn es vom Darmlumen her eindringen will, auf die mit starker Aktivität an Histaminase versehene Schleimhaut. Vom Darm her ist also keine Wirkung auf die Muskulatur zu erreichen, sondern nur von außen. Für Acetylcholin gibt es solche Zonen im Darm nicht, da es jedenfalls in unseren Versuchen von beiden Seiten her in etwa gleicher Konzentration einzuwirken vermag.

Jedoch liegt in unseren Versuchen ein Problem in der Frage, warum die volle Wirkung des Acetylcholins häufig so langsam zu voller Stärke

ansteigt. In den Modellen finden wir nicht die Ursache, da die Anstiegsgeschwindigkeiten gerade bei dem zweiten Modell, das die meiste Wahrscheinlichkeit für sich hat, rascher erfolgen. Langsamer würde der Anstieg sein bei einem Modell, bei dem erst eine gewisse Menge Acetylcholin gebunden wird und nach Füllung dieser Depots der Anstieg der aktiven Konzentration erfolgt. Eine Andeutung in dieser Richtung ergäbe sich in der von Kahlson erschlossenen Herausdiffusion von Acetylcholin aus dem Darm während der längeren Auswaschung mit Tyrode. Bei den anderen Alkaloiden (Atropin und Morphin) wird die Wirkung auch häufig nicht direkt beobachtet, sondern bedarf einer gewissen Einwirkungszeit. Zu solchen Substanzen müßte dann Acetylcholin auch gehören, d. h. allmähliche Wirkung.

Je nachdem wie die Substanz sich im Gewebe nach den Modellen verhält, wird — von verschiedenen Seiten zugeführt — ein verschiedenes Verhalten von C, $\partial C/\partial x$ und $\partial C/\partial t$ resultieren. Eine konstante Kapazität der Zerstörung vor die den Reiz aufnehmenden Stellen kann eine undurchdringliche Wand aufbauen, so daß jede Art von Giftwirkung unterbleibt, während eine Phase, wo die Zerstörung proportional der Konzentration stattfindet, immer bestimmte Mengen des Giftes durchläßt. Alle drei Wirkungsbedingungen können dann erfüllt werden, aber in verschiedener Art, d. h. die Richtung des Einmarsches wird von Bedeutung sein, nicht nur bei Wirkung $\partial C/\partial x$, sondern auch bei $\partial C/\partial t$ und C.

Wird die Substanz unzerstörbar sein, dann kommen von beiden Seiten dieselben Gradienten, aber mit verschiedenen Vorzeichen zustande, weil der Gradient nur von dem Diffusionswiderstand der betreffenden Schicht abhängt; insgesamt wird aber durch die betreffende Schicht dieselbe Menge Substanz durchdiffundieren. Aber die absolute Höhe der Konzentration C wird sich ganz verschieden verhalten können, je nachdem, wie bei Schichtung des Diffusionsweges die verschiedenen Widerstände angeordnet sind. Liegt der höchste Widerstand möglichst fern von der Einmarschrichtung, dann wird C groß werden, und als selbstverständliche Konsequenz auch $\partial C/\partial t$. Die einfache Festlegung des Gradienten usw. ist auch noch nicht ausreichend, um den Vergiftungstyp nach einer dieser Definition festzulegen*.

Wir werden aus diesen modellmäßigen Ableitungen entnehmen, daß gerade dann, wenn eine Zerstörung der Substanz innerhalb der Zelle stattfindet, der Beweis für das wirkliche Vorliegen eines Potentialgiftes, etwa

---

* Über die Einzelheiten des anatomischen Baues der Darmwand sprechen wir nicht weiter. Z. B. wäre die Frage zu stellen, ob die Zellen symmetrisch sind, wie zwischengeschaltete Membranen den Diffusionsweg verändern und die Diffusionsfront deformieren. Um auf solche Fragen einzugehen, ist unser Verfahren noch viel zu primitiv.

wie es Straub mit Muskarin gelungen ist, nur sehr schwer, wenn nicht unmöglich sein wird. Man beachte, daß wir hier nur in einer Dimension denken, daß aber in der Zelle bei räumlicher Anordnung der Esterase Senken für Acetylcholin gegeben sind (daß sie im Darm nicht in Form einer Barriere angeordnet sind, haben auch unsere Versuche gezeigt), da diese Substanz auch gebildet oder aus einer unwirksamen Bindung freigemacht wird, werden auch Quellen vorhanden sein. Das möge nur ahnen lassen, wie schwierig das Potentialfeld gerade einer Substanz wie Acetylcholin sein wird.

Im übrigen möchte ich annehmen, daß sehr vielen Stoffen Eigenschaften von Potentialgiften zukommen, und sie aufzusuchen, wird immer von Bedeutung sein, da wir allmählich so zur Sammlung von Eigenschaften des Zellplasmas kommen, die mit der Organisation, d. h. der Anordnung der einzelnen Plasmateile zusammenhängen. Ich selbst habe in dieser Richtung voranzukommen gesucht, und von außen zugeführte Substanzen sind als Sonden für diesen Zweck ganz besonders geeignet. Doch sind unsere Befunde sporadisch und man muß mit Bedauern feststellen, daß wir einerseits über das Zusammenspiel der Makroorgane, z. B. in Kreislauf und Nervensystem, vieles wissen, ebenso wissen wir vieles über den molekularen Bau der Einzelzellen, über Fermente und sogar über ganze Reihen von Stofftransformationen, aber darüber, wie diese beiden Bereiche zusammenhängen, wissen wir so gut wie nichts. Zur Erforschung dieser Vorgänge wird der Straubsche Begriff erst seine volle Bedeutung erlangen, und zwar sowohl in der Formulierung von Heubner als auch von Kahlson. Wir werden ihn also nicht ablehnen wie Clark[23], weil er nicht direkt auf ein physikochemisches Gesetz führt, sondern immer noch der organischen Struktur als Vermittler der Anschauung bedarf.

Um die Einzelheiten klarzulegen, bedurfte es leider weitläufiger theoretischer Auseinanderlegungen. Um wirklich weiterzukommen, wird man ausführliche mathematische definierte Überlegungen nicht umgehen können. Diese haben wir hier absichtlich nur angedeutet. Bei geeigneten Versuchen werden wir sie weiter ausführen.

Zusammenfassung.

Es wird eine anschauliche Darstellung der Potentialgiftwirkung entwickelt. Dabei ergeben sich zwei Definitionen: die Wirkung hängt ab von der Konzentrationsänderung von der Zeit $\left(\frac{\partial C}{\partial t}\right)_x$, oder von dem örtlichen Gradienten $\left(\frac{\partial C}{\partial x}\right)_t$.

---

[23] Clark, A. J.: General Pharmakology. Heffters Handb. exper. Pharmak., Ergänzungswerk 4 (1937), besonders S. 200f.

Um zu prüfen, nach welchem Prinzip Acetylcholin am Darm einwirkt, wird eine Methode angegeben, die es gestattet, den einen Faktor vom anderen zu sondern. An diesem Präparat werden Erfahrungen mit Morphin, Atropin und Papaverin mitgeteilt. Es gelang nicht, Acetylcholin einer der beiden Definitionen zuzuordnen. Gegenüber den Giften, die einfach proportional der Konzentration einwirken (Morphin, Atropin), gibt es noch bestimmte Unterschiede, wenn auch nach Versuchen dieser Typ der Wirkung der Acetylcholinwirkung am nächsten kommt.

Die Bedeutung von Potentialgiften an sich für die Plasmaforschung wird angedeutet, aber um sich vor Fehlern und Verschwommenheit zu bewahren, ist mathematische Präzisierung der Gedanken zu fordern.

Einige Angaben finden sich über die Zersetzlichkeit von Acetylcholin an bestimmten Glassorten.

Aus der biologischen Abteilung des „Allgemeinen Instituts gegen die Geschwulstkrankheiten". (Direktor: Prof. Dr. Cramer, Rudolf-Virchow-Krankenhaus, Berlin.)

Die Wirkung von Hämatoporphyrin auf die Bildung von antigonadotropen Stoffen im Blut.

Von

W. Rodewald.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 11. Juni 1943.)

Es konnte früher berichtet werden, daß bei Fröschen, Ratten, Kaninchen und Hunden nach wiederholten Injektionen von Hämatoporphyrin im Blut Hemmstoffe (Antihormone) gegen das Melanophorenhormon der Hypophyse auftreten, die wahrscheinlich mit den von Collip beschriebenen Antihormonen identisch sind (1). Es wurde jetzt untersucht, ob sich nach wiederholten Injektionen von Hämatoporphyrin ebenfalls Hemmstoffe gegen das gonadotrope Hormon der Hypophyse erzeugen lassen.

Die Versuche wurden an vier gesunden erwachsenen Kaninchen durchgeführt, die jeden 2.—3. Tag 1 mg Hämatoporphyrin (Photodyn, Nordmarkwerke) intramuskulär abwechselnd in die beiden Oberschenkel erhielten. Die Injektionen wurden von den Tieren gut vertragen. Am Ende der Versuche wurden die Tiere durch Luftembolie getötet und unter der U.V.-Lampe die Fluoreszenz in den einzelnen Organen geprüft. Dabei zeigte sich, daß das Porphyrin verhältnismäßig schnell aus dem Organismus verschwunden war. Es ließ sich nur noch an der Stelle der letzten Injektion, die 2—3 Tage vor dem Töten gemacht worden war, nachweisen und einmal (bei Tier 60) im unteren Dünndarmabschnitt. Im Gegensatz zu den früher behandelten Tieren, die in einem kürzeren Zeitraum größere Mengen Hämatoporphyrin erhielten, ließ sich in der Niere, in der Galle und im Harn keine Rotfluoreszenz aufzeigen. Bei Tier 14, das 2 Tage nach der letzten Injektion getötet wurde, war in der Milz eine sehr schwache Fluoreszenz nachweisbar. Makroskopisch traten bei den behandelten Tieren keine Organveränderungen auf.

Nach jeder 10. Injektion wurde aus der Ohrvene Blut genommen, das auf seine antigonadotrope Wirkung geprüft wurde: vier infantile, weibliche Mäuse, 6—8 g schwer, erhielten an 3 aufeinanderfolgenden Tagen insgesamt fünfmal 0,2 ccm des zu untersuchenden Kaninchenserums subcutan und vom 3. Tage an sechsmal 0,2 ccm einer Lösung von gonadotropem Hormon (Anteron, Schering), insgesamt 2,5 E. 100 Stunden nach der ersten Hormoninjektion wurden die Tiere getötet und die Veränderungen an den Ovarien, insbesondere die Zahl der Corpora lutea, mit denen von gleich schweren Kontrolltieren, die gleiche Hormonmengen erhalten hatten, verglichen. In größeren Reihenuntersuchungen über die antigonadotrope Wirkung von menschlichem Blut hat sich diese Methode zum Nachweis von Stoffen, die das gonadotrope Hormon hemmen oder fördern, gut bewährt.

In der beigefügten Abbildung ist die Hormonwirkung bei den Kontrolltieren als eine Gerade angegeben. Bei den Versuchstieren wurde die durchschnittliche Abweichung der Zahl der Corpora lutea von der Zahl der bei den Kontrolltieren gefundenen Gelbkörpern eingezeichnet und

damit die hemmende oder fördernde Wirkung des Kaninchenserums auf das gonadotrope Hormon angegeben.

Das Serum von unbehandelten Kaninchen beeinflußt die Wirkung von gonadotropem Hormon nicht. Die geringen Schwankungen, die gefunden werden, liegen innerhalb der Fehlergrenze. Der Befund von Graham (2), daß bei normalen Kaninchen bereits antigonadotrope Stoffe im Blut vorkommen, konnte nicht bestätigt werden. Nach den ersten zehn Injektionen von Hämatoporphyrin lassen sich bei allen Tieren Hemmstoffe gegen das gonadotrope Hormon nachweisen. Im weiteren Verlauf sind die Kurven nicht gleichmäßig. Die Hemmstoffe können während

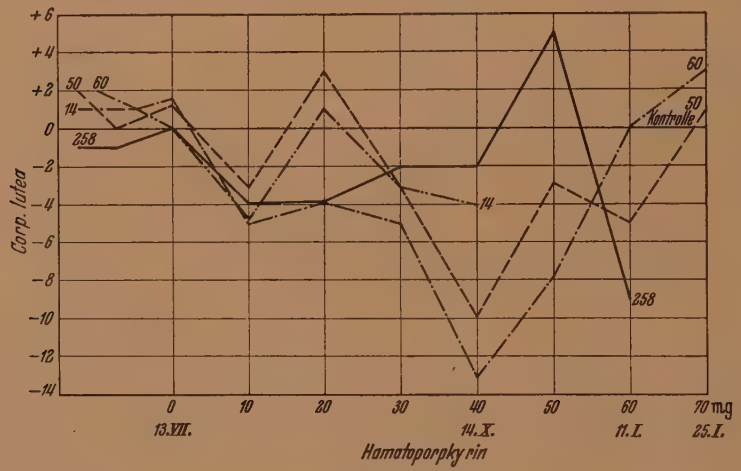


Abb. 1.

der fortgesetzten Behandlung wieder aus dem Blut verschwinden. Es tritt dann sogar eine „progonadotrope" Wirkung ein, d. h. die Wirkung des gonadotropen Hormons auf das Mäuseovar wird durch die Serumbehandlung gesteigert. Die progonadotrope Phase wird aber immer wieder von einer antigonadotropen abgelöst.

In der Leber der entbluteten Versuchstiere ließ sich kein das gonadotrope Hormon hemmender oder fördernder Stoff nachweisen, wenn auch das Blut zur gleichen Zeit größere Mengen von Antihormon enthielt. Die Extraktion von antigonadotropen Stoffen aus der Leber geschah folgendermaßen: Die frisch entnommene Leber wurde zerkleinert, mit Quarzsand verrieben und 1 Stunde lang mit 30%igem Alkohol geschüttelt. Das Filtrat wurde im Vakuum bei 40° verdampft; der trockene Rückstand mit Äther gewaschen, getrocknet und in 10 ccm Aqua dest. aufgenommen. Der so gewonnene Extrakt wurde an Mäusen gegen Anteron getestet. (Mit diesem Verfahren lassen sich aus Blutkuchen große Mengen antigonadotroper Stoffe extrahieren.)

Parallel zu den Untersuchungen auf gonadotrope Hemmstoffe wurden nach jeder 10. Injektion die Blutbilder der Tiere untersucht. Im differenzierten weißen Blutbild traten keine Veränderungen ein; auch die Schwankung der Gesamtleukocytenzahlen lagen innerhalb der normalen Grenze. Dagegen trat regelmäßig eine Vermehrung der Erythrocyten um 1—2 Millionen auf, was auch schon aus der Literatur bekannt ist (3). Der Hämoglobingehalt des Blutes unterlag keinen deutlichen Veränderungen.

Der Wechsel zwischen der Bildung antigonadotroper und progonadotroper Stoffe im Serum ähnelt der Bildung von Antihormonen gegen das Melanophorenhormon beim Kaninchen nach chronischer Hämatoporphyrininjektion, wobei ebenfalls die hemmende Wirkung des Serums auf das Hormon für kurze Zeit wieder aufgehoben sein kann (1). Die früheren Versuche wurden allerdings mit höheren Porphyrindosen in einem kürzeren Zeitraum durchgeführt. Während damals in der Leber reichliche Mengen von Hemmstoffen gegen das Melanophorenhormon auftraten, ließen sich jetzt keine Antihormone gegen das gonadotrope Hormon darin nachweisen. Die Entstehung der Hemmstoffe nach Porphyrininjektionen geht wahrscheinlich nicht direkt durch das Hämatoporphyrin, sondern durch eine Beeinflussung der Hypophyse vor sich. Es konnte bereits gezeigt werden, daß nach einer einmaligen Hämatoporphyringabe Melanophorenhormon ausgeschüttet wird. Wahrscheinlich wird auch gonadotropes Hormon unter dem Einfluß von Porphyrin abgegeben.

Unsere Versuche nachzuweisen, daß nach Hämatoporphyrin gonadotropes Hormon ausgeschüttet wird, waren nicht eindeutig: infantilen weiblichen Mäusen wurden 100, 10 und 1 γ Hämatophorphyrin in sechsfacher Unterteilung gegeben. Die Ovarien wurden 100 Stunden nach der ersten Injektion herausgenommen und histologisch untersucht. Bei je drei bis vier von zwölf Tieren jeder Serie ließen sich mäßige Reifungserscheinungen an den Follikeln, die bei den unbehandelten Tieren nie beobachtet wurden, feststellen. Man kann annehmen, daß unter dem Einfluß der Porphyrininjektion gonadotropes Hormon aus der Hypophyse ausgeschüttet wird und die Veränderung an den Follikeln bewirkt.

Die wiederholte verstärkte Abgabe von Hormon würde dann zu einer Abwehrreaktion des Organismus führen, die sich in der Bildung von Antihormonen zeigt. Ob die Entstehung von progonadotropen Stoffen dann auf eine Hemmstoffbildung gegen den Synergisten nach Evans zurückgeführt werden muß, wie es Rowlands (4), Thompson (5) und andere annehmen, oder ob es sich dabei wieder um eine Gegenreaktion gegen die Verarmung des Organismus an wirksamem gonadotropem Hormon handelt, läßt sich noch nicht klären. Das Antihormon, das gegen das körpereigene gonadotrope Hormon gebildet wird, kann gegen Hormon aus Serum (Anteron) und gegen Hormon aus Schwangerenharn (Prolan) getestet werden. In beiden Fällen wird die Wirkung des Hormons auf die Ovarien der infantilen Maus gehemmt. (In einzelnen Untersuchungen wurde das von den mit Hämatoporphyrin behandelten Kaninchen gewonnene Serum

gegen 30 E. Prolan bei der infantilen Maus getestet. Es wurde eine deutliche Hemmung der Prolanreaktion erzielt.) Die Angaben von Kabak und anderen (6), daß antigonadotrope Stoffe nur gegen das Hormon gerichtet sein sollen, durch das sie erzeugt worden sind, können damit nicht bestätigt werden. Die Ergebnisse sprechen vielmehr für eine artunspezifische Wirkung (7) des Antihormons, das den gonadotropen Komplex angreift, ohne im serologischen Sinne als Antikörper gegen ein bestimmtes arteigenes Begleiteiweiß gerichtet zu sein (8).

Zusammenfassung.

1. Durch wiederholte Injektionen von Hämatoporphyrin (Photodyn, Nordmarkwerke) können beim Kaninchen Hemmstoffe gegen das gonadotrope Hormon erzeugt werden.

2. Im Verlauf der über 6 Monate fortgesetzten Behandlung treten im Serum auch progonadotrope Stoffe auf, die die Wirkung von gonadotropem Hormon steigern.

3. Der unter der Porphyrinwirkung gebildete Hemmstoff kann gegen gonadotropes Hormon aus Serum und aus Schwangerenharn getestet werden.

4. Unter der fortgesetzten Porphyrineinwirkung wird eine Zunahme der Erythrocyten beobachtet. Der Hämoglobingehalt und das weiße Blutbild verändern sich nicht.

Literatur.

1) Hinsberg u. Rodewald: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 1—11 (1938). — 2) Graham: Klin. J. Physiol. **11**, 329—333 (1937). — 3) Vannotti, A.: Porphyrine und Porphyrinkrankheiten. Berlin 1937. — 4) Rowlands: J. Endocrinology **1**, 177—183 (1939); Proc. roy. Soc. Lond. **124**, 492—521 (1938). — 5) Thompson: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **35**, 640—644 (1937). — 6) Kabak: Ref. Chem. Zbl. **1939**, II, 3440; Guyénot u. Ponse: Ref. Chem. Zbl. **1939**, I, 2227. — 7) Simmonet u. Michel: C. r. Soc. Biol. **129**, 918—921 (1938). — 8) Østergaard: Nord. med. Tskr. (Schwd.) **14**, 1853—1859 (1937); V. den Ende: J. Endocrinology **1**, 156—171 (1939).

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Innsbruck.

Die Wirkung von Pervitin auf das Zentralnervensystem des Frosches, insbesondere auf das Rückenmark*.

Von

K. Wulff.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 16. Juni 1943.)

Das Pervitin, als Hydrochlorid des 1-Phenyl-2-methylaminopropans dem Adrenalin, Tyramin oder Ephedrin nahestehend, entfaltet bei höheren Tieren oder beim Menschen neben Kreislaufwirkungen auch einen erregenden Einfluß auf das Zentralnervensystem: Verstärkung der Spontanaktivität bei der Maus im Zitterkäfig (1), psychische Leistungssteigerung und Unterdrückung der psychischen Ermüdung beim Menschen, ferner Weckwirkung im Zusammenspiel mit Narcoticis usw. Andererseits sind auch gegenteilige zentrale oder periphere Wirkungen des Pervitins bekannt: Verlängerung der Analgesie durch Morphin (2), Erhöhung der Schmerzschwelle (3) sowie die lokalanästhetische Wirkung (4) usf. Von psychiatrischer Seite ist sogar erörtert worden, ob die Pervitinwirkung nicht überhaupt auf einer Lähmung von Hemmungszentren beruht.

Da Pervitin an verschiedenen Stellen des Zentralnervensystems wohl auch verschiedene Wirkungen hervorbringt, war es naheliegend, zunächst die Rückenmarksbeeinflussung durch diesen Stoff allein zu prüfen, wozu sich der Kaltblüterorganismus besonders gut eignet. Bisher scheint in der Literatur über die Pervitinwirkung am Kaltblüter [mit einer Ausnahme (5)] noch nichts berichtet. Zur Prüfung des Einflusses von Pharmacis auf das Rückenmark stehen im Froschversuch vor allem zwei Verfahren zur Verfügung: das von Scheminzky und Mitarbeitern (6) entwickelte „Stromdosisverfahren" am unversehrten Ganztier, sowie die Prüfung der Reflexerregbarkeit am Rückenmarksfrosch. Beide Verfahren wurden auch für die vorliegende Fragestellung herangezogen.

Das „Stromdosisverfahren" beruht auf dem Befund von Scheminzky (7), daß unterschwellige Dosen von Narcoticis die Schwellenstromdosis für die Galvanonarkose (GN.) herabsetzen, d. h. sich mit unterschwelligen Stromdosen addieren. GN. ist jener Lähmungszustand, der vor allem bei Wirbeltieren bei absteigender Durchströmung mit konstantem Gleichstrom eintritt und bei nicht zu langer Durchströmung sowie Einhalten des Schwellenwertes bei Stromausschaltung sofort wieder verschwindet. Unter Wasser durchströmte Frösche (Kopf der Anode,

* D 304.

Hinterende der Kathode zugekehrt) zeigen z. B. während der GN. erschlaffte Gliedmaßen und lassen sich, wenn der Schwellenwert erreicht ist, ohne Abwehrversuche auf den Rücken legen. Nach älteren Untersuchungen, vor allem aber nach denen von Scheminzky (8) (9) (11) (12) sowie Köllensperger und Scheminzky (10) liegt der Angriffspunkt des galvanischen Stromes bei der GN. im Rückenmark; daher lassen pharmakologisch erzielte Verschiebungen der GN.-Schwellenstromdosis einen Schluß auf die Änderungen der Rückenmarkserregbarkeit zu. Das Zusammenspiel eines zentrallähmenden Pharmakons mit dieser GN. wird am besten so verfolgt, daß nach der Injektion des Mittels in den Rückenlymphsack die Schwellenstromdosis für die GN. — geprüft am Auslöschen des Umdrehreflexes — in Zeitabständen von z. B. je 10 Minuten fortlaufend bestimmt wird. Mit der Resorption des eingespritzten Mittels sinkt die Schwellenstromdosis, durchläuft ein Minimum, um mit der Zerstörung bzw. Ausscheidung des Pharmakons wieder auf den Ausgangswert anzusteigen. Bei unbeeinflußt gebliebenen Fröschen schwankt die Schwellenstromdosis für die GN. in aufeinanderfolgenden Bestimmungen nur um $\pm$ 5%. Die Darstellung der Stromdosis als Kurve in Abhängigkeit von der Zeit gibt dann eine Art von „Wirkungskurve" des geprüften Pharmakons, da dessen Wirkung um so größer sein muß, je niedriger die für volle GN. erforderliche Schwellenstromdosis in dem betrachteten Augenblick ist. Zentral erregende Stoffe — wie Strychnin, Coffein, Coramin usw. — beeinflussen in kleinen Dosen gleichfalls schon die GN., nur erhöhen sie die Schwellenstromdosis; nach dem Anstieg der Stromdosiskurve und dem Durchlaufen eines Maximums wird schließlich wieder der Ausgangswert erreicht. Durch fortlaufende Bestimmung der Stromdosis für die GN. nach Einspritzung eines bestimmten Stoffes ist daher zu erkennen, ob dieser zentral lähmend oder zentral erregend wirkt: Absinken der Stromdosiskurve zu einem Minimum im ersten Fall, Anstieg zu einem Maximum im zweiten. Der Abstand des Minimums bzw. des Maximums von der Abszissenachse erlaubt die Beurteilung der Wirkungsstärke, die Zeit bis zur Rückkehr der Stromdosiskurve zum Ausgangswert eine solche der Wirkungsdauer.

Die Prüfung der Reflexerregbarkeit kann z. B. durch Messung der Schwellenstromstärke für tetanisierende Reizung an den Zehen eines Fußes beim dekapitierten, lotrecht aufgehängten Frosch bestimmt werden, wobei als Reflexerfolg das Anziehen des gereizten Beines auftritt.

Die Prüfung der Pervitinwirkung mit diesen beiden Verfahren wurde in den Monaten Oktober 1942 bis Februar 1943 an Rana esculenta durchgeführt. Für jede Versuchsreihe (Stromdosisverfahren bzw. Reflexpräparat) wurden Frösche aus einer einheitlichen Lieferung und vom gleichen Standort benutzt. Für das Stromdosisverfahren stammten die Tiere aus dem Fanggebiet um Wien, für die Reflexversuche aus Ungarn; die wünschenswerte Verwendung des gleichen Froschmaterials für beide Versuchsreihen war wegen Lieferungsschwierigkeiten nicht möglich, doch wurden die grundsätzlichen Ergebnisse dadurch nicht berührt.

Das Pervitin wurde uns in Reinsubstanz von den Temmler-Werken in Berlin-Johannisthal zur Verfügung gestellt. Die Lösung wurde mit Aqua bidest. hergestellt, im Eisschrank aufbewahrt und im allgemeinen nur ein paar Tage lang verwendet. Eine Übersicht über die angewandten Konzentrationen und die in den Rückenlymphsack injizierten Mengen gibt die folgende Tabelle 1; durch geeignet konzentrierte Lösungen wurde erreicht, daß die zu injizierende Flüssigkeitsmenge kein zu großes Volumen hatte. Für einen Frosch von etwa 50 g Körpergewicht lag das injizierte Volumen nach Tabelle 1 zwischen 0,25 und 1,0 ccm; eine genaue Abmessung auch kleiner Volumina war durch Anwendung einer Tuberkulinspritze möglich.

Tabelle 1. Übersicht über die angewandten Konzentrationen des Pervitins sowie über die injizierten Mengen und Volumina.

Konzentration	Menge im Liter g	Injizierte Menge je kg Frosch mg	Injizierte Menge je 10 g Frosch mg	Injiziertes Volumen je 10 g Frosch ccm
1 : 100	10	200	2000	0,2
		100	1000	0,1
1 : 400	2,5	50	500	0,2
		25	250	0,1
1 : 1600	0,625	12,5	125	0,2
		6,25	62,5	0,1
1 : 6410	0,156	3,12	31,2	0,2
		1,56	15,6	0,1
1 : 100 000	0,01	0,2	2	0,2
		0,05	0,5	0,05
1 : 500 000	0,002	0,01	0,1	0,05

A. Das Allgemeinverhalten der Frösche nach Pervitineinspritzungen.

Eine Erregbarkeitssteigerung, kenntlich an einer größeren Beweglichkeit, dem Hochspringen im Glas, an einer verstärkten Empfindlichkeit für Klopfreize u. dgl., wie sie bei Einwirkung zentralerregender Mittel bekannt sind, hat sich bei keiner der angewandten Dosen gezeigt. Bei höheren Dosen, von etwa 100 mg/kg an, trat sogar eine narkotisierende Wirkung ein; solche Tiere waren weniger beweglich, drehten sich aus der Rückenlage schwerfälliger um oder waren bei hohen Dosen vollkommen regungslos wie in einer Narkose. Bei Dosen um 200 mg/kg dauerte dieser Zustand einen Tag und länger, doch erholten sich die im Keller aufbewahrten Tiere wieder im Verlauf von einigen weiteren Tagen. Krämpfe oder andauernde tonische Muskelanspannungen, wie sie z. B. Köllensperger für Cardiazol beschrieben hat (13), wurden niemals beobachtet.

Zentralerregende Mittel, welche die Stromdosiskurve der GN. nach aufwärts verschieben, können auch die Hautsekretion verstärken; dies wurde sowohl nach Injektion des im Froschrückenmark während galvanischer Durchströmung entstehenden „Erregungsstoffes“ [Scheminzky und Köllensperger (12)], als auch nach Injektion von Adrenalin [Rolleri (14)] beobachtet. Auch eine derartige Sekretionssteigerung konnte nach Pervitineinspritzung niemals gesehen werden.

B. Die Prüfung der Pervitinwirkung mit dem Stromdosisverfahren.

1. Methodik.

Die Durchströmung der Frösche — zur Bestimmung der Schwellenstromdosis für die GN. — erfolgte in einer 59 cm langen und 19 cm breiten Glaswanne mit an den Schmalseiten eingehängten Kohlenelektroden bei einem Wasserstand von 80 mm (Innsbrucker Leitungswasser). Der Gleichstrom wurde aus dem Wechselstrom-Stadtnetz durch Zweiweg-Gleichrichtung und sorgfältige Glättung gewonnen und dann der Wanne — zum Zweck des Ein- und Ausschleichens — über einen

fein regelbaren Spannungsteiler zugeleitet; im Stromkreis der Wanne befand sich ein Milliamperemeter und ein Stromwender.

Zur Bestimmung der Schwellenstromdosis wurde jeder Frosch einzeln in die Wannenmitte gebracht, mit seiner Längsachse in die Richtung der Stromlinien und mit dem Kopf gegen die Anode eingestellt und in dieser Lage mit einer Glasgabel von oben festgehalten; dann erfolgte das Einschleichen des Stromes bis zum Eintreten der GN., daran erkennbar, daß das Tier nach Umdrehen in Rückenlage sich von selbst nicht mehr zurückdrehte. Nach Ablesung der Schwellenstromstärke am Meßinstrument wurde die Stromausschaltung durch Ausschleichen vorgenommen.

Der allgemeine Versuchsverlauf bestand zunächst in der dreimaligen Bestimmung der Schwellenstromdosis für die GN. in Abständen von je 10 Minuten, ferner in der an die dritte Bestimmung unmittelbar angeschlossenen Einspritzung des Pervitins in den Rückenlymphsack und in der weiter fortlaufenden Bestimmung der Stromdosis in 10-Minuten-Abständen. Jeder Einzelversuch — mit einer bestimmten Dosierung — wurde mit vier Esculenten von durchschnittlich je 30—80 g Körpergewicht durchgeführt; jedes Tier kam einzeln in 10-Minuten-Abständen in die Wanne. Jeder Einzelversuch mit je vier Fröschen wurde für jede Dosierung zweimal durchgeführt; die hier abgebildeten Stromdosiskurven sind daher aus Mittelwerten von je acht Tieren gewonnen.

Zur Zeichnung der Stromdosiskurve wurde zunächst für jedes einzelne Tier die Stromdosis der dritten — der Injektion unmittelbar vorhergegangenen — Bestimmung gleich 100 gesetzt („Ausgangswert") und jeder Meßwert einer folgenden Bestimmung in Prozenten des Ausgangswertes ausgedrückt. Schließlich wurden alle Prozentwerte je Meßzeitpunkt der vier zu einem Versuch gehörenden Tiere zu einem Mittelwert zusammengezogen. Diese mittleren Prozentwerte liefern dann, in ein Koordinatensystem — mit der Zeit als Abszisse, dem Mittelwert der Stromdosis als Ordinate — eingetragen, die gesuchte Stromdosiskurve. Wie schon erwähnt, sind die hier abgebildeten Kurven aber nicht aus Mittelwerten von vier-, sondern von zweimal vier Tieren gewonnen worden.

2. Ergebnisse.

Abb. 1 bringt Beispiele für die Beeinflussung der GN.-Stromdosiskurve durch Pervitin. In allen Stromdosiskurven zeigt sich zunächst ganz allgemein eine Senkung der GN.-Schwelle; das Pervitin muß also eine lähmende Wirkung auf das Rückenmark entfalten. Mit dem Stromdosisverfahren läßt sich diese bereits bei Dosen nachweisen, die das Allgemeinverhalten des sonst unbeeinflußten Tieres noch nicht verändern. Die Wirkungstiefe des Pervitins, kenntlich an der im Verlauf eines Versuchs feststellbaren größten Stromdosissenkung, nimmt mit der injizierten Menge zu, ebenso wie die Wirkungsdauer. Grundsätzlich kehren alle Stromdosiswerte wieder zum Ausgangspunkt zurück; die Pervitinwirkung ist also vollkommen reversibel. Bei Dosen von 3,0 mg/kg aufwärts konnte die Rückkehr zum Ausgangswert allerdings nicht mehr im kurzdauernden Versuch, sondern erst durch Messung am folgenden Tage festgestellt werden. Bei der Dosis von 200 mg/kg sank die GN.-Schwelle so schnell ab, daß der Versuch abgebrochen werden mußte; auch diese Tiere erholten sich aber im Verlaufe von mehreren Tagen.

Bemerkenswert ist, daß kleine Dosen, z. B. die von 0,2 mg/kg in Abb. 1, eine zweiphasische Wirkung ergaben; nach der anfänglichen und vorübergehenden Senkung der Stromdosiskurve tritt eine kurzdauernde Erhöhung über den Ausgangswert ein; dem Stadium der lähmenden Wirkung muß daher ein solches mit Erregbarkeitssteigerung folgen. Ganz ähnliche zweiphasische Kurven, wenn auch mit zeitlich anderen Verhältnissen, wurden auch bei den Dosen 0,05 mg/kg und 0,01 mg/kg beobachtet. Im Allgemeinverhalten der sonst unbeeinflußten Tiere hat sich diese zweite Phase gleichfalls nicht ausgedrückt. Eine zweiphasische Wirkung eines zentral erregenden Stoffes auf die Stromdosiskurve wurde

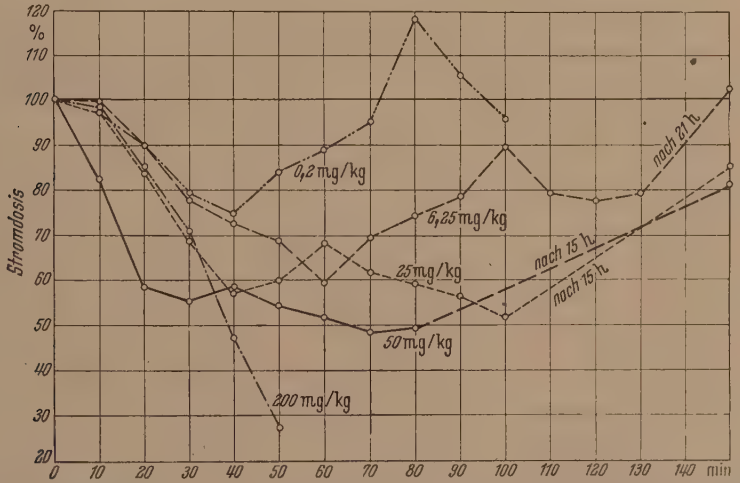


Abb. 1. Stromdosiskurve für die Galvanonarkose nach Injektion von Pervitin in den Rückenlymphsack beim Frosch. Abszisse: Zeit nach der Injektion; Ordinate: Schwellenstromdosis zur Erzielung der Galvanonarkose in Prozenten des Ausgangswertes vor der Injektion, die mit dem Nullpunkt der Zeitachse zusammenfällt.

schon beim Coffein in geringer Dosierung beobachtet [Adler und Hradecky (15)]. Sie zeigte sich dort nur umgekehrt, indem der ersten erregbarkeitssteigernden Phase die lähmende folgte. Dieses letzterwähnte Verhalten entspricht — hier auf das zeitliche Geschehen übertragen — durchaus den bekannten Eigenheiten der Analepticis, die in kleinen Dosen erregen, in stärkeren aber lähmen.

Die Latenzzeit der Pervitinwirkung fällt bei allen angewandten Dosierungen in das Bereich jener, die auch bei Prüfung anderer zentral erregender Stoffe gefunden wurde. Bereits 10 Minuten, spätestens 20 Minuten nach der Injektion in den Rückenlymphsack ist die Verschiebung der GN.-Schwelle deutlich.

Da die Zahl der mir zur Verfügung gestandenen Frösche infolge von Lieferungsschwierigkeiten begrenzt war, konnte die kleinste noch wirksame Pervitindosis, ebenso wie die Letaldosis, nicht genau festgestellt werden.

Die kleinste noch wirksame Pervitindosis, auf die Prüfung mit dem Stromdosisverfahren bezogen, muß jedenfalls unter 0,005 mg/kg, die Letaldosis dagegen um 1000 mg/kg liegen.

C. Die Prüfung der Pervitinwirkung am Reflexpräparat.

1. Methodik.

Die Enthirnung der Frösche wurde, um starken Blutverlust zu vermeiden, nicht durch Dekapitieren vorgenommen, sondern durch Einstechen einer Nadel an der Wirbelsäulen-Schädelgrenze von der Rückenseite her, die dann durch das Foramen occipitale in den Schädelraum vorgeschoben wurde. Durch etwa 2—3 Minuten lang ausgeführte Quer- und Kreisbewegungen läßt sich eine sichere Abtrennung des Gehirns vom Rückenmark und die Zerstörung des ersteren erreichen.

Der enthirnte Frosch wurde wie üblich lotrecht aufgehängt. Zur Reflexauslösung dienten faradische Ströme eines Schlittenapparates, dessen Wagnersche Hammer dauernd lief. Gereizt wurde die Haut zwischen den Zehen eines Hinterbeines mittels eingestochener Häkchen, die mit der Reizanordnung durch feine Kupferdrähte verbunden waren. Ein dem Präparat parallel geschalteter Kurzschlußschlüssel ermöglichte die Einschaltung des Reizstromes in beliebigen Zeitpunkten; um die Reizzeit jedoch bei allen Messungen gleich groß zu halten, befand sich im Reizkreis noch ein Metronom mit Quecksilberkontakten, welches in Zeitabständen von etwa 1,5—2 Sekunden den Strom für rund 0,3 Sekunden einschaltete.

Zur Bestimmung der Reizschwelle für die Reflexauslösung wurde zunächst bei großem Rollenabstand der Kurzschlußschlüssel geöffnet; dann wurde eine Kontaktgebung durch das Metronom abgewartet, in der folgenden Reizpause mit Kurzschluß dann der Rollenabstand etwas verkleinert, wieder die Reaktion des Tieres auf die Kontaktgebung beobachtet, der Rollenabstand während des Kurzschlusses wieder verkleinert usw., bis endlich das reflektorische Anziehen des Beines beobachtet werden konnte. Dann wurde der Kurzschluß für die Dauer einer ganzen Minute hergestellt, hierauf wieder beseitigt und die Reizschwelle, wie beschrieben, nochmals bestimmt. Nach einer neuen Pause von 1 Minute erfolgte noch eine dritte gleichartige Messung. Alle drei Bestimmungen wurden dann zu einem Mittelwert zusammengezogen und dem Zeitpunkt der mittleren Bestimmung zugeordnet.

Der Versuchsverlauf bei der Prüfung der Pervitinwirkung bestand zunächst in der Feststellung des Ausgangsschwellenwertes, in der anschließenden Injektion des Pervitins in den Rückenlymphsack und in der dann folgenden wiederholten Messung der Reizschwelle in 10-Minuten-Abständen. Da, wie beschrieben, jede Einzelbestimmung dreimal durchgeführt wurde, erfolgte also die erste Prüfung der Reizschwelle 9 Minuten nach der Injektion, dann nochmals um die 10. und um die 11. Minute; der Mittelwert aus diesen drei Messungen wurde bei der kurvenmäßigen Darstellung des Erregbarkeitsverlaufes dann der 10. Minute zugeordnet.

Wie bekannt, kann zwar die Ablesung des Rollenabstandes bei einem Schlittenapparat als Anhaltspunkt für die Reizstärke benutzt werden, sagt aber über die absolute Reizgröße und auch über die Größe der Reizstärkeänderung nichts aus; für die Darstellung des Erregbarkeitsverlaufes in Kurvenform war daher eine Eichung des Schlittenapparates erforderlich, die mit einem Röhrenvoltmeter vorgenommen wurde. Es war daher bekannt, in welchem Verhältnis sich die Reizstärke bei allen in Frage kommenden Verschiebungen der Sekundärspule wirklich änderte.

Zur kurvenmäßigen Darstellung der Reflexerregbarkeit wurde ähnlich wie beim Stromdosisverfahren die Reizstärke in der Ordinatenachse, bezogen auf den mit 100 bezeichneten Ausgangswert, eingetragen, in der Abszissenachse wieder die

Zeit. Damit die Stromdosiskurven und die Kurven für die Reflexerregbarkeit dasselbe Bild liefern, wurde bei den letzteren die Reizstärke in der Ordinatenachse nach unten aufgetragen; einer Erniedrigung der Erregbarkeit entspricht hier ja eine Erhöhung der Schwellenreizstärke, beim Stromdosisverfahren dagegen eine Senkung der Galvanonarkoseschwelle.

2. Ergebnisse.

Wenn ein Pharmakon eine lähmende Wirkung auf das Rückenmark ausübt, dann ist eine Erhöhung der Reizschwelle für die Reflexauslösung zu erwarten. Es wurden daher Vorversuche mit dem sicher zentral lähmenden Avertin vorgenommen. Wie Abb. 2 zeigt, ist nach der Einspritzung des Avertins in den Rückenlymphsack die Schwellenreizstärke tatsächlich erhöht; bei den kleinen Dosen (5 bzw. 10 mg/kg) verläuft die Schwellenkurve für die Reflexauslösung ganz ähnlich wie die Stromdosiskurve für die GN., indem auch hier die Empfindlichkeit absinkt, durch ein Minimum geht und schließlich wieder gegen den Ausgangswert ansteigt. Die Kontrolltiere zeigten während des Versuchs eine allmählich verlaufende, leichte Abnahme der Reflexerregbarkeit, von der sich diejenige durch die Avertineinspritzung aber vollkommen eindeutig unterscheiden läßt.

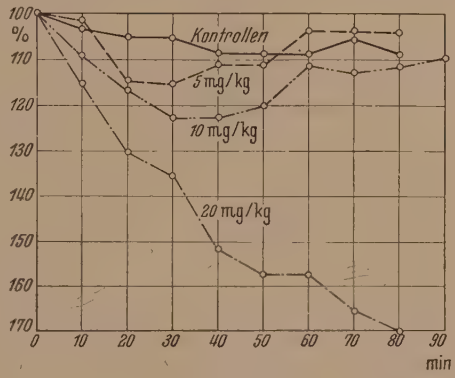


Abb. 2. Veränderung der Schwellenreizwerte zur Auslösung des Beugereflexes beim Frosch nach Injektion von Avertin in den Rückenlymphsack. Abszisse: Zeit nach der Injektion; Ordinate: Schwellenreizstärke in Prozenten des Ausgangswertes vor der Injektion, die mit dem Nullpunkt der Zeitachse zusammenfiel. Reizstärke bezogen auf die Eichung des Schlittenapparates mit einem Röhrenvoltmeter.

Daß bei diesem Prüfverfahren auch das Pervitin praktisch gleichartig wirkt, geht aus Abb. 3 hervor. Auch hier ist bei den kleinen Dosen (15 bzw. 60 mg/kg) die Senkung der Reflexschwelle gegenüber den Kontrollen schon deutlich zu erkennen und auch reversibel.

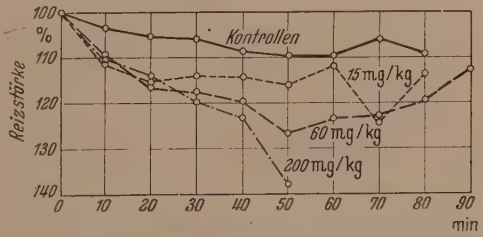


Abb. 3. Veränderung der Schwellenreizwerte zur Auslösung des Beugereflexes beim Frosch nach Injektion von Pervitin in den Rückenlymphsack. Abszisse: Zeit nach der Injektion; Ordinate: Schwellenreizstärke in Prozenten des Ausgangswertes wie bei Abb. 2. Injektion beim Nullpunkt der Zeitachse.

Im Vergleich zur Prüfung der zentralen Erregbarkeit mit dem Stromdosisverfahren sind allerdings die Ausschläge bei der Reflexprüfung geringer, wie sich aus dem Vergleich der Abb. 1 und 3 ergibt. Eine Überlegenheit des Strom-

dosisverfahrens kann jedoch aus diesem Vergleich vorläufig nicht abgeleitet werden, da die beiden Versuchsreihen nicht mit dem gleichen Froschmaterial unternommen worden sind.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Die erstmalig am Kaltblüterorganismus durchgeführte Prüfung der zentralen Pervitinwirkung hat zu zwei bemerkenswerten Ergebnissen geführt: a) hinsichtlich der Wirkung auf das Rückenmark allein und b) hinsichtlich des Pervitinangriffpunktes überhaupt.

Zu a. Sowohl das Stromdosisverfahren am Ganztier als auch die Prüfung der Reflexschwelle beim Rückenmarksfrosch zeigten übereinstimmend, daß Pervitin am Rückenmark keine Erregbarkeitssteigerung, vielmehr eine Herabsetzung der Erregbarkeit bzw. eine ausgesprochene Lähmung herbeiführt. Diese sind mit den genannten Verfahren schon bei Dosen nachzuweisen, welche das Allgemeinverhalten des unversehrten Ganztieres nicht merkbar beeinträchtigen und erwiesen sich selbst bei Einspritzung großer Mengen noch reversibel. Bei ganz kleinen Dosen konnte mit dem Stromdosisverfahren eine zweiphasische Wirkung gesehen werden, bei der einer ersten erregbarkeitsvermindernden Phase eine zweite, gleichfalls vorübergehende und erregbarkeitssteigernde folgte, gerade umgekehrt wie bei Coffein (15); aber auch diese erregbarkeitssteigernde Phase der Pervitinwirkung drückte sich im Allgemeinverhalten des Tieres nicht aus. Die Erregbarkeitsherabsetzung beginnt etwa 10—20 Minuten nach der Einspritzung in den Rückenlymphsack und dauert je nach der Dosierung eine bis viele Stunden. Da Rückenmarksgifte im allgemeinen beim Frosch grundsätzlich gleichartig wie bei höheren Tieren wirken, so darf wohl auch für diese angenommen werden, daß Pervitin am Rückenmark in größeren Dosen eine bloß erregbarkeitsvermindernde Wirkung entfaltet. Diese Feststellung ist auch insofern bemerkenswert, als Rolleri (14) für das dem Pervitin nahestehende Adrenalin gerade mit dem Stromdosisverfahren eine erregbarkeitserhöhende Wirkung auf das Froschrückenmark nachgewiesen hat.

Zu b. Der Nachweis einer lähmenden Wirkung des Pervitins auf das Froschrückenmark schließt natürlich nicht eine erregende auf übergeordnete Zentren aus. Daß eine solche aber beim Frosch nicht zustande kommt, geht aus den Beobachtungen über das Allgemeinverhalten der Tiere hervor. Dieses war bei keiner Dosierung innerhalb des Bereiches vom Schwellenwert bis zur Letaldosis im Sinne einer Erregbarkeitssteigerung verändert, es kam auch nicht zu einer Sekretionsverstärkung wie nach Adrenalin (14) oder zum Auftreten tonischer Muskelspannungen oder Krämpfen, wie z. B. nach Cardiazol (13); selbst die bei kleinen Pervitindosen sich im Stromdosisverfahren zeigende zweite Phase vorübergehend leicht erhöhter Erregbarkeit drückte sich im Allgemeinverhalten nicht aus. Bei höheren Dosen trat aber auch am unversehrten Ganztier

nur die von anderen Analepticis her bekannte lähmende Wirkung hervor, die u. U. 1 Tag und mehr andauern konnte, jedoch bis knapp vor der Letaldosis immer reversibel war. Das Vermögen, auf Pervitin mit gesteigerter Erregbarkeit zu reagieren, muß daher offenbar an einen Entwicklungsgrad des Zentralnervensystems gebunden sein, der beim Frosch noch gar nicht erreicht ist. Selbst beim Coramin tritt die erregbarkeitssteigernde Wirkung auf das Zentralnervensystem des Frosches noch hinter der lähmenden Wirkung zurück und bei Fischen ist auch beim Coramin, ebenso wie beim Neospiran, nur die letztere allein zu beobachten [Hahn und Antweiler (16)]. Im Sinne der progressiven Cerebration nach v. Economo muß jedenfalls der Angriffspunkt der beim Säuger so auffälligen Erregungswirkung des Pervitins in Zentren gesucht werden, die erst bei den letzteren zur Ausbildung gekommen sind. Daß das Lumbalmark des Regenwurms auf Pervitin mit erhöhter Tätigkeit reagiert [Kreienberg (5)], mag mit der ganz anderen Organisation der Bauchganglienketten zusammenhängen.

Bemerkenswert ist schließlich die große Dosierungsspannweite des Pervitins beim Frosch. Die Schwellendosis für die Beeinflussung der Galvanonarkose muß bei 0,005 mg/kg liegen, die Letaldosis etwa bei 1000 mg/kg; aus diesen Zahlen ergibt sich ein Verhältnis von 1 : 200000. Nimmt man die stimulierende Dosis für einen Menschen mit 70 kg (gewöhnlich 3—6 mg) mit rund 7 mg, d. i. 0,1 mg/kg an, so würde die Letaldosis des Frosches das 10000fache der beim Menschen üblich angewandten stimulierenden Dosis betragen.

Zusammenfassung.

Aus der Beobachtung des Allgemeinverhaltens, der Veränderung der Stromdosiskurve für die Galvanonarkose sowie aus der Verschiebung der Reflexschwelle nach Injektion von Pervitin in den Rückenlymphsack muß geschlossen werden, daß dieses Analepticum beim Frosch ausschließlich eine lähmende Wirkung entfaltet; die für die Erregungswirkung beim Säuger und beim Menschen maßgeblichen Angriffspunkte des Pervitins im Zentralnervensystem sind offenbar beim Frosch noch nicht ausgebildet, müssen also an einen Entwicklungsgrad des Zentralnervensystems gebunden sein, der im Sinne der progressiven Cerebration erst bei höheren Tieren auftritt. Bei Prüfung der Rückenmarkserregbarkeit mit dem Stromdosisverfahren kann nach kleinen Pervitingaben wohl eine, der lähmenden Phase folgende schnell vorübergehende Erregbarkeitserhöhung nachgewiesen werden, die sich jedoch im Allgemeinverhalten nicht ausdrückt. Die in der beträchtlich großen Dosierungsspannweite des Pervitins von 1 : 200000 (Schwellendosis um 0,005 mg/kg, Letaldosis um 1000 mg/kg) beim Frosch beobachtbaren Lähmungswirkungen haben sich stets als reversibel erwiesen.

Literatur.

1) Hauschild, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 465 (1938). — 2) Jecel: Münch. med. Wschr. **1940**, S. 239. — 3) Kiessig, H. J., u. G. Orzechowski: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 391 (1941). — 4) Kiessing, H. J.: Schmerz usw. **15**, 21 (1942). — 5) Kreienberg, W.: Klin. Wschr. **1942** (I), S. 328. — 6) Scheminzky, F.: Pflügers Arch. **202**, 200 (1924); **243**, 439 (1940); Adler, P.: Ebenda **230**, 113 (1932); Kraus, H., u. W. Reiffenstuhl: Ebenda **233**, 380 (1933); Adler, P., u. Cl. Hradecky: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 541 (1936); Adler, P., u. Cl. Hradecky: Klin. Wschr. **1937** (I), S. 519; Adler P., u. Cl. Hradecky: Schweiz. med. Wschr. **1938**, S. 384. — 7) Scheminzky, F.: Pflügers Arch. **202**, 200 (1924). — 8) Scheminzky, F.: Ebenda **237**, 273 (1936). — 9) Scheminzky, F., O. Hochstädt u. P. Adler: Ebenda **237**, 284 (1936). — 10) Köllensperger, F. K., u. F. Scheminzky: Ebenda **241**, 38 (1938). — 11) Scheminzky, F.: Ebenda **243**, 439 (1940). — 12) Scheminzky, F., u. F. K. Köllensperger: Ebenda **241**, 54 (1938). — 13) Köllensperger, F. K.: Klin. Wschr. **1939** (II), S. 1521. — 14) Rolleri, F.: Pflügers Arch. **245**, 745 (1942). — 15) Adler, P., u. Cl. Hradecky: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 541 (1936). — 16) Hahn, F., u. H. Antweiler: Z. exper. Med. **111**, 365 (1942).

Aus der II. Medizinischen Universitäts-Klinik der Charité in Berlin.
(Direktor: Prof. Dr. G. von Bergmann.)

Die Einwirkung von Strophanthusglykosiden auf die Coronardurchblutung.

Von

Hansjürgen Oettel und **Gustav Schimert jr.**

Mit 4 Textabbildungen (5 Einzelbildern).

(Eingegangen am 17. Juni 1943.)

Durch die Untersuchungen von Stoll (1) hat es sich herausgestellt, daß die Herzgifte aus der Digitalisgruppe sich zum Teil lediglich durch eine Steigerung des Verzuckerungsgrades unterscheiden. Dies gilt besonders für die Lanataglykoside, welche gegenüber denen der Digitoxinstufe höheren Zuckergehalt besitzen, allerdings aber auch das Merkmal der Acetylierung aufweisen. Ein höherer Zuckergehalt ist auch bei K-Strophantosid gegenüber dem K-Strophanthin β festzustellen. Die Eigenart der Wirkung des K-Strophanthosids ist von A. Moll (2) darin erblickt worden, daß es eine etwas intensivere Strophanthinwirkung ausübt. Grundsätzliche klinische Unterschiede konnten von ihm gegenüber dem K-Strophanthin β am Krankenbett nicht erhoben werden.

Beim G-Strophanthin hat aus dem Institut von Mannich G. Sievert (3) in letzter Zeit eine neue Strukturformel aufgestellt. Das G-Strophanthin unterscheidet sich von den Körpern der K-Strophanthusreihe einmal durch das Vorhandensein einer Äthylgruppe in C 10 gegenüber der Aldehydgruppe und weiterhin durch den besonders hohen Gehalt an Hydroxylgruppen. Es enthält nämlich nach den Untersuchungen von Sievert ein primäres Hydroxyl in Form einer CH_2OH-Gruppe am C-Atom 10, des weiteren drei sekundäre Hydroxylgruppen an den C-Atomen 1, 3, 16, und schließlich zwei tertiäre Hydroxylgruppen an den C-Atomen 5 und 14. Es ergibt sich dementsprechend für das G-Strophanthin nach weiterer Betrachtung des vorliegenden Zuckers in C 3 das Glykosid selbst als ein G-Strophanthidin-1-Rhamnosid.

Weiterhin ist unter die Strophanthusglykoside das Convallatoxin gerechnet worden. Fieser und Jacobson (4) haben etwas abweichend von früheren Strukturformeln für Convallatoxin zwar ebenfalls eine Aldehydgruppe in C 10 wie bei den K-Strophanthusglykosiden angenommen, es konnte aber weiterhin aus Convallatoxin durch Alkoholyse mit salzsäurehaltigem Alkohol ein Produkt erhalten werden, welches mit Oxydodianhydrostrophanthidinmethylat identisch war. Sie nehmen Verzuckerung

in C 3 mit Rhamnose an.* Wir möchten nach der biologischen Wirkung das Convallatoxin nicht als unbedingt identisch mit Strophanthin erachten.

Bezüglich der dynamischen Wirkung sind nach eigenen klinischen Untersuchungen [Oettel (5)] die Strophanthusglykoside nicht allzu erheblich verschieden. Als Isodynam in der Dosis fanden wir 0,25 mg G-Strophanthin mit 0,3 mg K-Strophanthin bzw. 0,3 mg K-Strophanthosid und etwa 0,3 mg Convallatoxin. Bei der Dosenisodynamie sei nur kurz darauf hingewiesen, daß diese sich je nach Krankheitszustand, Krankheitsverlauf und Art der Erkrankung etwas ändern kann. Die Intensität der Wirkung dürfte bei intravenöser Applikation der Strophanthusglykoside also ähnlich sein. Die Wirkungsdauer und die Wirkung auf die Herzfrequenz ist lediglich beim G-Strophanthin etwas ausgeprägter als bei den übrigen hier genannten Substanzen. Die in dieser Arbeit von uns abgehandelten Herzgifte glauben wir deshalb als Strophanthingruppe bezeichnen zu dürfen, weil ihre chemischen Eigenschaften immerhin deutliche Verwandtschaft zeigen. Überdies ist nach einer von A. Beaume vorgeschlagenen Einteilung der herzwirksamen Glykoside die Strophanthusgruppe für alle Körper der K-Strophanthinreihe, das G-Strophanthin und das Convallatoxin in Vorschlag gebracht worden. Untersuchungen der Wirkung auf die Herzdynamik haben nach den Ergebnissen von Gremels (7), Kroetz (8) und Hildebrandt (9) sowie von F. von Bergmann (10) auch für Convallatoxin keine grundsätzlichen Unterschiede vom exakt pharmakologischen Standpunkt aus ergeben.

Obgleich die Unterschiede der dynamischen und energetischen Beeinflussung der Herztätigkeit bei den einzelnen Strophanthusglykosiden keine entscheidenden sind, muß doch auf Grund von klinischer Erfahrung bei der Angina pectoris angenommen werden, daß sich bei der Wirkung irgendwelche Besonderheiten ergeben könnten. Hier sind zweifellos zu berücksichtigen die Möglichkeiten eines Angriffspunktes an der Blutversorgung des Herzmuskels. Diese ist von Kroetz in besonders eindeutiger Weise durch den reziproken Wert der coronaren O_2-Utilisation definiert worden. Neben dieser wichtigen Betrachtungsweise der Durchblutung des Herzmuskels ist jedoch auch die laufende Messung der coronaren Durchblutungsgröße klinisch von Interesse. Zweifellos sind die Reserven der coronaren O_2-Versorgung, welche in der Sauerstoffausnutzung gegeben sind, methodisch nur sehr schwer zugänglich, worüber wir hoffen, an anderer Stelle Ergebnisse mitteilen zu dürfen.

Es sei daher erlaubt, daß wir uns im folgenden mit der Besprechung der Änderung der Coronardurchblutung befassen und etwaige Beziehungen zu ihrer Bedingtheit durch Änderung des Minutenvolumens, des Blutdrucks und der Herzfrequenz aufzeigen. Als Negativum wurde methodisch die Registrierung des Vorhofdruckes als unabdingbar in Rechnung gestellt.

Hierbei sei festgestellt, daß gewisse Steigerungen der Vorhofdrucke keine deutlich meßbare Minderung der Coronardurchblutung veranlassen, wie es ja theoretisch immerhin möglich wäre.

Methodik.

Die Coronardurchblutung wurde mit Hilfe der Reinschen Stromuhr registriert. Zur Messung gelangte die Durchblutungsgröße der Arteria coronaria d extra und in einzelnen Fällen die der Arteria coronaria sinistra. Alle untersuchten Tiere wurden in Chloralosenarkose bei künstlicher Atmung und völlig intakter Innervation untersucht. Als Dosen verwandten wir meist jeweils 0,1 mg Glykosid pro 20 kg Hund. Die Registrierung der Durchblutungsgröße der Vena cava inferior, gemessen mit der Reinschen Stromuhr, ergibt zwar keine Absolutwerte des Minutenvolumens, es darf jedoch diese Größe als relatives Maß für die zum Herzen zurückströmende Blutmenge wie für die im Umlauf befindliche Blutmenge angesehen werden.

Versuche.

K-Strophanthin.

Im allgemeinen bleiben bei den verwandten Dosen Blutdruck und Venendruck unverändert. Dies gilt vor allem auch für die Herzfrequenz, welche für den Blutbedarf des Herzens bei gleicher Leistung als vorwiegend entscheidend angesehen werden darf [Rein (11)]. Die Größe der Coronardurchblutung erfuhr keine sicheren Veränderungen. Die in einem Beispiel dargelegte Spontaninsuffizienz des Herzens, die sich in einem Steigen des Druckes im rechten Vorhof kundtat, erfuhr etwa 10 Minuten nach Applikation des genannten Glykosids eine deutliche Senkung.

Abb. 1a und 1b zeigen den fehlenden Einfluß von K-Strophanthin bei laufender Registrierung der A. coron. d. In diesen wie in allen folgenden Abbildungen sind zur Beurteilung der hämodynamischen Verhältnisse der Druck in der Arteria femoralis, im rechten Vorhof und die Durchströmungsgröße der Vena cava inferior mitregistriert.

K-Strophantosid.

Gegenüber dem K-Strophanthin β ist vorwiegend eine mittlere Zunahme der Coronardurchblutung zu verzeichnen. Hierbei bleiben Blutdruck und Herzfrequenz ebenfalls im wesentlichen unbeeinflußt. Von großer Bedeutung ist die Feststellung, daß es manchmal 10 Minuten nach der Applikation auch bei sinkendem Minutenvolumen und sinkenden Vorhofdrucken bei einem erhöhten Coronarminutenvolumen bleibt. Dies belegt die relativ deutliche Mehrung des Coronardurchflusses durch das stärker verzuckerte K-Strophantosid.

Die möglichen Abnahmen der Minutenvolumina nach Applikation von Herzglykosiden in therapeutischen Dosen sind übrigens wohl allen bis-

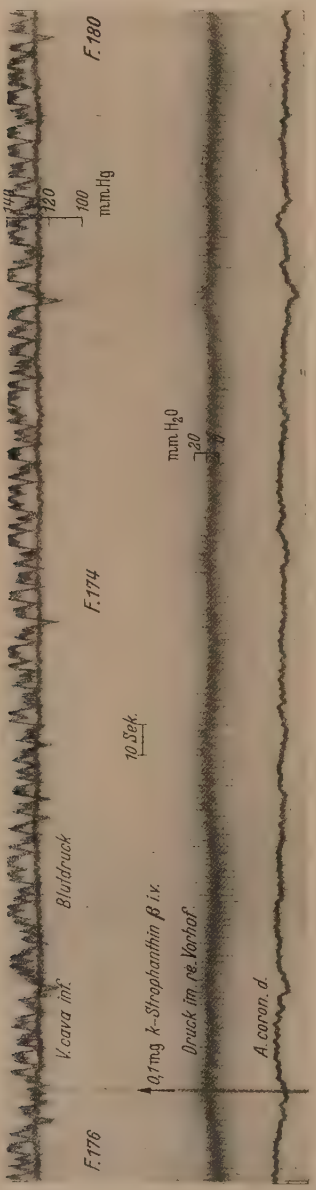


Abb. 1a.

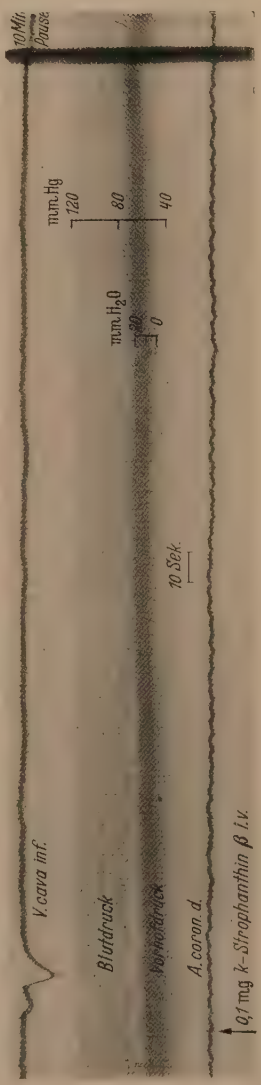


Abb. 1b.

her untersuchten Reinglykosiden zuzusprechen. Es kann dies auf einer Zunahme der Speicherungsgröße der Peripherie oder aber im Sinne von Rühl (12) auf einer Verbesserung der O_2-Utilisation beruhen.

Abb. 2 zeigt mittlere Erhöhung der Coronardurchblutung durch K-Strophanthosid.

Convallotoxin.

Bei allen Untersuchungen konnten Abweichungen der Blutdruck- und Venendruckwerte nicht nachgewiesen werden. Vor allem blieben die Zahlen der Herzfrequenz stets im wesentlichen unverändert. In den Fällen, welche Steigerungen der Minutenvolumina zeigten, erfolgte freilich in der von Hildebrandt und Kroetz beschriebenen Weise ein Anstieg der Coronardurchblutung. Wegen der klinisch günstigen dynamischen Wirkung des Convallatoxins haben wir des weiteren auch in einigen Versuchen die Durchblutung der linken Kranzarterie geprüft. Anders als beim K-Strophanthosid sind hier im allgemeinen weder Senkungen noch Steigungen der Durchblutungsgröße sowohl in der rechten als auch in der linken Kranzarterie in stärkerem Maße nachweisbar gewesen.

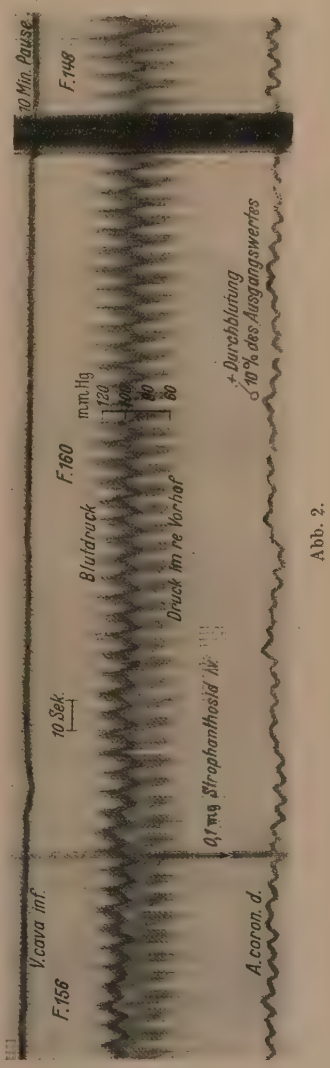


Abb. 2.

Abb. 3 zeigt eine leichte vorübergehende Steigerung der linken Kranzarterie bei unverändertem Blutdruck und Vorhofdruck. Weiter ist im Gegensatz zum K-Strophanthosid nach 10 Minuten Pause der geringe Effekt auf die Coronardurchblutung fast völlig abgeklungen, während die Durchblutungszunahme bei K-Strophanthosid einen langwährenden Charakter trägt.

G-Strophanthin.

Das G-Strophanthin ist für Blut- und Venendruck am unvorbehandelten Tier im wesentlichen irrelevant. Es stellt sich jedoch ein langsames stetes Sinken der Durchblutungsgröße der Cava inferior ein. Im Gegensatz dazu nimmt die Coronardurchblutung erheblich zu, um sich auf einem erhöhten Wert für die Dauer von mindestens 30 Minuten zu halten, ohne daß Rückgänge zu verzeichnen wären. Hierdurch ist gemäß der abfallenden Cavadurchblutung, die eigentlich eine Verminderung des Coronardurchflusses nach

sich ziehen müßte, geradezu eine besonders zu betonende (fast elektive) Mehrung des nutritiven Blutdruckflusses des Herzens anzunehmen.

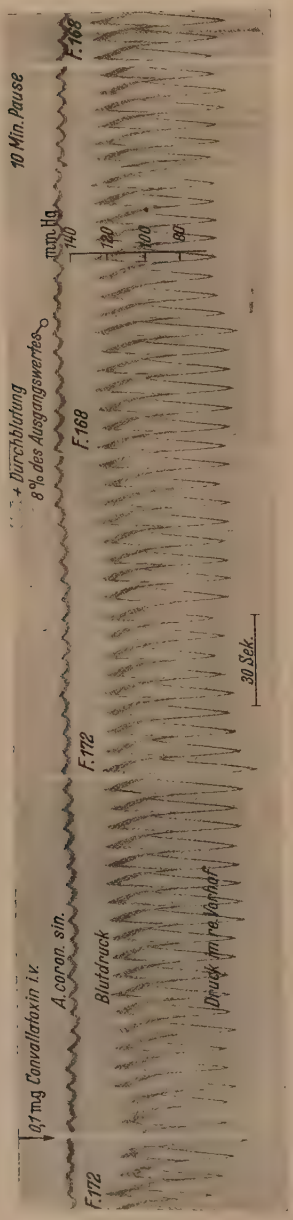


Abb. 3.

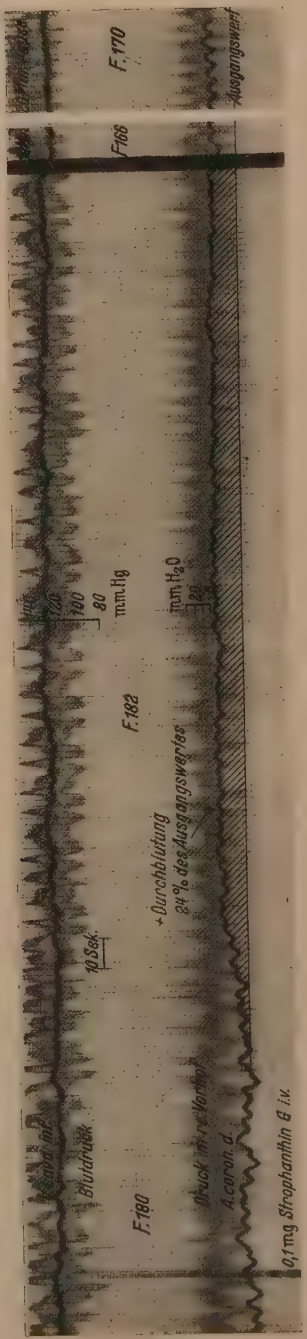


Abb. 4.

Abb. 4 zeigt die besonders ausgedehnte Steigerung des Coronardurchflusses, die deshalb als stetig zunehmend bezeichnet werden darf, weil bei ihrem Konstantbleiben die Cavadurchblutung gleichmäßig abnimmt.

Besprechung der Ergebnisse.

Auf die günstige Wirkung der Herzglykoside im besonderen der Strophanthusreihe ist vornehmlich von Edens (13) stets hingewiesen worden. Diese therapeutische Erkenntnis hat sich besonders bei der Behandlung der Coronarinsuffizienz, auch in ihrem Beginn wie in allen weiteren Stadien, und beim Herzinfarkt ausgewirkt. Die von Edens angegebenen Richtlinien der Dosierung zeigen weiterhin die wichtige Trennung von Indikation und Dosis eines Herzglykosids auf, je nachdem, ob man Coronarwirkungen oder rein dynamische Herzwirkungen erzielen will. Edens spricht allgemein vom Herzzustand als maßgebendem Faktor für Dosengröße und Darreichungsart des Glykosids.

Wir möchten hier auf Grund noch unveröffentlichter Untersuchungen von G. Schimert jr. (14) den Zustand der arteriellen Mangeldurchblutung im Herzen und im besonderen im Herzinfarkt als etwas Besonderes kennzeichnen. G. Schimert jr. zeigte im Tierversuch beim experimentellen Herzinfarkt, daß in solchen Zuständen die Durchblutungsmehrungen durch Herzglykoside unvergleichlich viel stärker sind, als dies bei der Normdurchblutung des Herzens der Fall ist. Es muß von Belang sein, daß die Herzglykoside in diese Ereignisse nicht nur nicht störend, sondern nutritiv regulierend eingreifen. Wie von G. Schimert jr. gezeigt werden konnte, bleiben Blutdruck und Minutenvolumen niedrig, während bei sinkenden Vorhofdrucken die Coronardurchblutung erhebliche Zunahmen erfährt. Wir möchten zwar die Herzglykoside nicht als Auslöser des Bezold-Effektes erachten, müssen ihnen jedoch eine ähnlich optimale Wirkung im lebensbedrohlichen Zustand des Herzinfarkts zuerkennen, wie man es für ein Hormon tun würde, wenn die Herzglykoside hierher zu rechnen wären. Es darf offengelassen bleiben, ob die Ergebnisse von Rein über die Beziehungen von Leberdurchblutung und Herzstoffwechsel hierin mit eine Interpretation zu finden vermöchten.

Die von uns verwandten Dosierungen belegen, daß die coronarwirksamen Mengen an Herzglykosiden wohl niedriger liegen als die, welche die Dynamik entscheidend beeinflussen. Die Klinik zeigt uns, daß bei arteriellem O_2-Defizit des Herzens bereits Dosen von 0,05 mg am Menschen wirksam sind und daß man sicher in Abstufungen von mindestens 0,05 mg Glykosid wird differenzieren müssen.

Wir haben klinisch des weiteren die Beobachtung gemacht, daß die Wirkungsgleichheit der Herzglykoside beim Sauerstoffmangel und insbesondere bei der arteriellen Minderdurchblutung anders liegt als bei der Ausrichtung auf dynamische Effekte. Wir möchten also Kroetz hierin bestätigen, daß für die Blutversorgung des Herzmuskels Dosen von 10 γ

Digilanid C wirkungsgleich sind mit 25 γ K-Strophantosid. Ob es nach allgemeinen klinischen Beobachtungen Brauch ist, die Angina pectoris mit Herzglykosiden zu behandeln, muß unwichtig erscheinen angesichts der Tatsache, daß auch normal tonisierte Kranzgefäße experimentell durch Glykoside der Strophanthusreihe, wie wir hier zeigen konnten, eine Erweiterung erfahren können. Trotz der chemischen Verschiedenheit gegenüber den Steroidhormonen sind die Herzglykoside zumindest vielleicht weniger als Gifte zu betrachten als andere für die Therapie verwandte chemische Substanzen.

Literatur.

1) Stoll: The cardiae glycosides. The Pharm. press. London 1927. — 2) Moll, A.: Wien. Arch. klin. Med. **34**, 276 (1940). — 3) Siewert, G.: Inaug.-Diss. Berlin 1938 (aus dem Pharmazeutischen Institut Berlin). — 4) Fieser u. Jacobson: J. amer. chem. Soc. **59**, 23m (1935). — 5) Oettel: Erg. inn. Med. **63** (1943). — 6) Beaume: Acta Soc. Medic. fenn. Duodecin (Fld) **1** (1921). — 7) Gremmels: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 1 (1936); **186**, 625 (1937); **188**, 79 (1937). — 8) Kroetz: Arch. Kreisl.forsch. **10**, 237 (1942). — 9) Hildebrandt: Ebenda **1941**, S. 137. — 10) Bergmann, F. von: Zit. nach W. Straub. — 11) Rein: Verh. d. Dtsch. Ges. f. inn. Med. **1932**. — 12) Rühl: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 22 (1937). — 13) Edens: Die Digitalisbehandlung. Urban und Schwarzenberg, 1934. — 14) Schimert jr., G.: Noch unveröffentlichte Ergebnisse. — 15) Rein: Vortrag am 6. Dezember 1942 im Kaiser Wilhelm-Institut in Dahlem.

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Köln.
(Direktor: Professor Dr. H. Lullies, jetzt Straßburg.)

Über den Wirkungsmechanismus des Acetylcholins*.

Von

H. J. Müsch

(z. Z. Wehrmacht).

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 9. Juli 1943.)

Bei orientierenden Versuchen zur Frage nach der Bedeutung des Acetylcholins (ACh.) bei der Tetanuserkrankung [Göpfert und Schäfer (1)] wurden einige Ergebnisse am Blutegelmuskel erhalten, die im folgenden kurz mitgeteilt werden sollen, da die eigentlich beabsichtigten Untersuchungen aus äußeren Gründen in absehbarer Zeit nicht fortgeführt werden können. Es handelt sich um die Umkehr der Wirkung höherer ACh.- und Cholinesterasekonzentrationen auf den Blutegelmuskel, wenn eine Behandlung des Präparats mit dem entgegengesetzt wirkenden Agens vorausgegangen war.

Methodik.

Die Untersuchungen wurden an Blutegeln ausgeführt, deren Rückenhautmuskeln entsprechend den Angaben Führners (2) präpariert und in Ringerlösung aufgehängt wurden. Die Registrierung der Bewegungen geschah ebenfalls in der von Führner angegebenen Weise (vergrößerte Wiedergabe gleichbleibend etwa im Verhältnis 10 : 1). Abweichend von Führner blieb der Muskel stets im gleichen Gefäß, dessen Inhalt durch einen am Boden befindlichen Hahn entleert werden konnte. Das Gefäß hatte etwa 20 ccm Inhalt. Die ACh.-Lösungen wurden in den angegebenen Konzentrationen stets frisch aus der Substanz bereitet**. Als Esteraseträger wurde frisches Pferdeserum von gesunden Tieren benutzt, das nur wenige Stunden bis zu 4 Tagen alt war und vorher auf Eis gestanden hatte. Ein Teil des Serums war mit Toluol überschichtet worden, das vor Gebrauch vorsichtig abpipettiert wurde. Die Untersuchungen wurden von September bis Oktober an frischen Tieren bei Zimmertemperatur ausgeführt. Für die Bewertung wurden nur solche Präparate verwendet, die prompte und ausgiebige Reaktionen zeigten. Die Präparate waren bei Beginn so aufgehängt, d. h. die Spannung war so gewählt, daß über wenigstens 10—15 Minuten eine gerade oder nur leicht abfallende Linie registriert wurde. Im allgemeinen wurden ACh.-Konzentrationen von 1 : 10000 bis 1 : 100000 angewendet. Das Pferdeserum wurde im Verhältnis 1 : 3 mit Ringerlösung verdünnt. Die tatsächlich zur Wirkung kommenden Esterasemengen können zahlenmäßig nicht angegeben werden.

---

* Abgeschlossen im Oktober 1941. — ** Es wurde ACh. der Firma Hoffmann-La Roche verwendet.

Ergebnisse.

1. Die Wirkung des Acetylcholins.

Entsprechend den von Führer (3) und Minz (4) mitgeteilten Befunden führte ACh. am nicht mit Eserin vorbehandelten Muskel in allen wirksamen Konzentrationen eine Kontraktion herbei. Verdünnungen von 1 : 1 Million waren oft nicht mehr wirksam. In anderen Fällen kam bei gleichen Konzentrationen noch eine ausgesprochene Wirkung zustande.

2. Die Wirkung der Cholinesterase.

Zugabe von Pferdeserum zur Ringerlösung — die Esterasemenge hann nicht angegeben werden — führte bei vorher nicht mit ACh. behandelten Präparaten zu einer Erschlaffung des Muskels.

3. Rhythmenbildung.

Im allgemeinen wurden bei Anwendung reiner ACh.-Lösungen keine rhythmischen Kontraktionen beobachtet. Wurden dagegen nach vorheriger ACh.-Anwendung esterasehaltige Lösungen untersucht, so traten meist Rhythmen auf, die auch in reiner Ringerlösung nicht oder nur langsam verschwanden. Mit Eserin ließ sich eine deutliche Verstärkung der Rhythmen erzielen. Ihr Typ wechselte stark. Sie kamen ebenso bei ACh.-Anwendung nach Vorbereitung mit Esterase zustande.

4. Gleichzeitige Anwendung von Acetylcholin und Esterase.

Wurde ACh. in der üblichen Konzentration mit Pferdeserum versetzt und blieb vor der Anwendung etwa 60 Minuten stehen, so reagierte der Muskel auf diese Lösung mit Erschlaffung. Die Lösung wirkte genau so, als ob kein ACh. vorhanden gewesen wäre.

5. Aufeinanderfolgende Anwendung von Acetylcholin und Esterase.

Bei Anwendung von ACh. auf Muskeln, die eine Zeitlang mit Esterase vorbehandelt worden und infolgedessen erschlafft waren, kam es in der Regel zu einer starken Kontraktion. Meist war die Kontraktion stärker als sie nach der Höhe der ACh.-Konzentration zu erwarten gewesen wäre bzw. bei gleicher Konzentration vor Anwendung der Esterase gewesen war. Bei Umkehr der zeitlichen Reihenfolge war das Ergebnis ein Nachlassen der Kontraktion.

Soweit entsprechen die Ergebnisse dem gewohnten Bild. Bei mehreren, allgemein sehr empfindlichen Präparaten war die Wirkung jedoch anders. Bei ihnen bewirkte ACh. nach Esterasevorbereitung eine Erschlaffung, während Esterase nach ACh.-Vorbereitung eine, wenn auch nur vorübergehende Kontraktion im Gefolge hatte. Die Abb. 1 und 2 geben Beispiele für dieses Verhalten.

Wie man sieht (Abb. 1), bewirkt ACh. 1 : 10000, das auf einen Muskel, der sich in Esteraselösung (Pferdeserum-Ringer 1 : 3) befunden hat, einwirkt, keine Kontraktion, sondern eine Erschlaffung. In Abb. 2 ist ein Versuch dargestellt, bei dem nach ACh. 1 : 10000 und Ringerlösung bei E Esterase (Pferdeserum-Ringer 1 : 3) einwirkt und eine starke Kontraktion mit ausgesprochener Rhythmenbildung hervorruft.

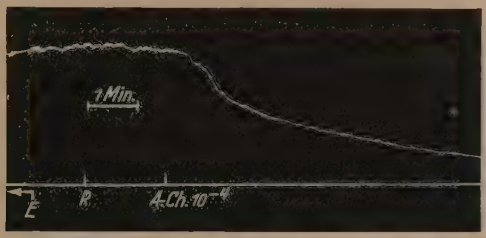


Abb. 1. Versuch 8. Nervenfreies Muskelpräparat vom Blutegel. Etwa 20 Minuten vor der mit *R* bezeichneten Zugabe von frischer Ringerlösung wurde über 5 Minuten eine Lösung von Ringer-Pferdeserum im Verhältnis 3 : 1 (Esterase) = *E* zugesetzt. Der Zusatz des Pferdeserums führte zu einem deutlichen Abfall der Kurve, danach wurde mehrfach mit Ringerlösung ausgewaschen. Bei Marke ACh. Zusatz von Acetylcholin-Ringer 1 : 10^4. Hierauf sofort einsetzender anhaltender Abfall der Kurve.

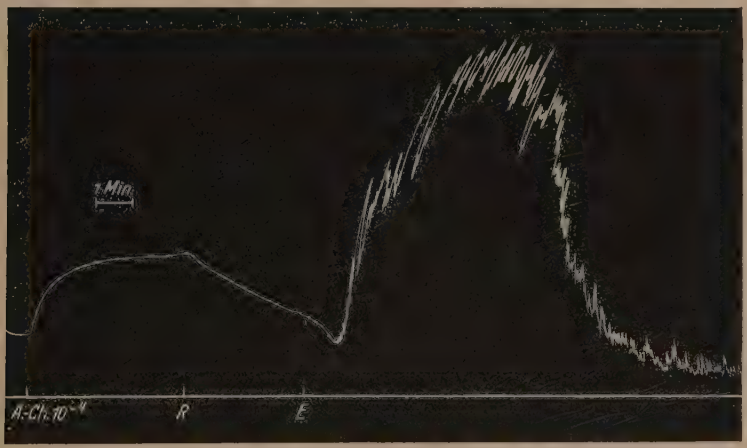


Abb. 2. Versuch 7. Nervenfreies Muskelpräparat vom Blutegel. Nach Ringerlösung erfolgt bei der ersten Marke Zugabe von Acetylcholin-Ringer 1 : 10^4. Es kommt zu einem deutlichen Anstieg der Kurve. Bei *R* wieder reine Ringerlösung, der Muskel erschlafft, die Kurve fällt wieder ab. Bei *E* Anwendung von Pferdeserum-Ringerlösung 1 : 3 (Esterase). Nach anfänglichem Abfall vorübergehender starker Anstieg mit sehr deutlichen rhythmischen Kontraktionen. Hierauf allmählicher Abfall unter Beibehaltung kleinerer Rhythmen bis zu waagerechtem Verlauf der Kurve.

6. Wirkung der Esterase auf die Dorylkontraktion.

Auf die durch Doryl (Carbaminoylcholinchlorid) bewirkte Kontraktion hat die Esterase praktisch keinen Einfluß. Es kommt dabei nur zu einem sehr geringen Nachlassen der Kontraktion. Das Größenverhältnis entspricht etwa der Erschlaffung am nicht vorbehandelten Muskel. Anderer-

seits wirkt Doryl nach Esteraseanwendung genau so, als ob der Muskel nicht vorbehandelt worden wäre.

Besprechung der Ergebnisse.

Aus der Tatsache, daß Zugabe von ACh. bei einem in mittlerer Spannungslage befindlichen Muskel eine Kontraktion herbeiführt, während Esterase unter gleichen Bedingungen eine Erschlaffung bewirkt, kann der Schluß gezogen werden, daß bei mittlerer Muskelspannung ein Gleichgewicht besteht, bei dem ACh.-Abbau bzw. auch Nachlieferung aus einer unwirksamen Vorstufe sich die Waage halten.

Dementsprechend kann das Auftreten von spontanen rhythmisch ablaufenden Kontraktionen als Ausdruck einer Störung des Gleichgewichts zwischen ACh.-bildenden und ACh.-beseitigenden Kräften aufgefaßt werden, wie es in früheren Arbeiten aus dem Kölner Institut vermutet wurde. Man könnte sich vorstellen, daß zur Aufrechterhaltung eines bestimmten ACh.-„Spiegels" eine bestimmte Esterasemenge notwendig ist*. Eine Störung dieses Gleichgewichts durch plötzliches Überwiegen einer Seite müßte zu einem stärkeren Wirksamwerden der anderen Komponente führen, wobei die Wirkung nicht nur einen Ausgleich herbeiführt, sondern auch über das Ziel hinausschießen kann, was vor allem auch an dem sehr empfindlichen Froschlungenpräparat beobachtet werden konnte [Brecht (8)].

Durch diese Auffassung finden verschiedene frühere Beobachtungen ihre Erklärung, z. B. die früher bei Reizversuchen am Froschischiadicus unter gleichzeitiger Registrierung der Gefäßweite gemachten [Breitbach und Müsch (6)]. Damals wurde festgestellt, daß im Anschluß an eine geeignete selektive Reizung des Ischiadicus rhythmische Schwankungen der Gefäßweite auftraten, die längere Zeit bestehen bleiben. Nach dem oben Gesagten wird man annehmen müssen, daß in diesen Fällen durch die Reizung eine Verschiebung im ACh.-Gleichgewicht erfolgt ist.

In einer weiteren Untersuchung über den Mechanismus der Gefäßerweiterung [Müsch und Cüppers (7)] wurde ebenfalls aus dem Auftreten von Rhythmen gefolgert, daß ihr Vorhandensein „an ein bestimmtes labiles Gleichgewicht zwischen verengernden und erweiternden Faktoren" gebunden ist. In dem angedeuteten ACh.-Esterasemechanismus wird man wenigstens einen Teil dieser Faktoren sehen müssen.

Die dargestellte Auffassung wird dadurch gestützt, daß Eserin, dem man bekanntlich eine hemmende Wirkung auf die Esterase zuschreibt, nicht nur (in höheren Konzentrationen) zu einer Kontraktion führt, sondern (in niedrigeren Konzentrationen) die Rhythmen verstärkt. Es ist von Führer (3) auch eine Verstärkung von Rhythmen durch Chinin beschrieben worden. Die fermenthemmende Wirkung des Chinins ist lange bekannt. Seine rhythmenverstärkende Eigenschaft könnte demnach auch auf einer Beeinflussung der Esterase, also auf einer Störung des angeführten Gleichgewichts beruhen.

* Zu der gleichen Annahme kommt neuerdings v. Hueber (5) nach klinischen Erfahrungen.

Daß in den mitgeteilten Versuchen die Rhythmen bei extremer Kontraktion und bei stärkster Erschlaffung nicht auftraten bzw. verschwanden, wäre durch ein extremes Verschieben des Gleichgewichts zu erklären. Extreme Kontraktion wäre demnach mit absolutem Überwiegen des ACh.-Aufbaues, extreme Erschlaffung mit Vorherrschen des Abbaues zu erklären.

In diesem Zusammenhang verdient eine Beobachtung Führners (3) Erwähnung, die auch von Minz (4) bestätigt wird. Führner stellte fest, daß am Blutegelpräparat Cholin in den gleichen Konzentrationen wie ACh. wirksam ist. Nimmt man an, daß sich die Esterasewirkung auf eine Zerstörung des ACh. beschränkt, dann ist nicht einzusehen, warum bei Zusatz von Esterase die ACh.-Wirkung nachläßt, da ja Cholin übrigbleibt und nun die gleiche Wirksamkeit entfalten müßte wie vorher das ACh. Das tatsächliche Nachlassen der Kontraktion bei Zusatz von Esterase kann also in diesem Zusammenhang als ein Beweis dafür angesehen werden, daß entweder die Cholinwirkung auf einem Umweg über den intracellulären ACh.-Stoffwechsel zustande kommt — etwa durch Verschieben des Gleichgewichts nach einer Seite — oder daß beim ACh.-Abbau neben der Zerstörung noch andere Faktoren eine Rolle spielen.

Meines Wissens ist es bisher nicht bekannt, in welcher Form der Cholinrest in der Zelle nach der Spaltung bestehen bleibt. Eine weitere Beobachtung Führners (3) über die sensibilisierende Wirkung vorhergehender selbst unwirksamer Cholinmengen auf die ACh.-Kontraktion spricht dafür, daß das Cholin nach Eindringen in die Zelle in eine wirksamere Form übergeführt wird. Vielleicht spielt bei diesen Vorgängen Acetylaneurin als Essigsäuredonator eine Rolle.

Daß die durch Doryl bewirkte Kontraktion durch Esterasezugabe nicht rückgängig gemacht werden kann, ist zu erwarten, da ja das Doryl durch Esterase nicht angegriffen wird. Das nach Esteraseeinwirkung beobachtete Nachlassen der Kontraktion bei vorheriger Dorylanwendung war in vorliegenden Versuchen etwa so groß, wie es in anderen Fällen ohne Doryl beim ruhenden Muskel war. Daraus geht hervor, daß die Dorylkontraktion unabhängig vom Gleichgewicht ACh.-Esterase erfolgt. Man wird also in der Dorylwirkung einen dem intracellulären ACh.-Stoffwechsel parallellaufenden Vorgang sehen müssen. Diese Ansicht wird auch durch das Fehlen von Rhythmen in diesen Versuchen gestützt.

Von der beobachteten Umkehr der ACh.- bzw. der Esterasewirkung könnte man sich demnach etwa folgende Vorstellung machen: Durch Zugabe reichlicher Esterasemengen befand sich das Präparat in einem Zustand, in dem diese Esterasewirkung soweit zurückgedrängt oder kompensiert war, daß wieder ein Gleichgewicht zwischen ACh. und Esterase bestand, welches dem beobachteten Kontraktionszustand entsprach. Durch Zugabe einer reichlicheren Menge ACh. kam es zu einem so starken Überwiegen der Abbautendenz, daß diese, über das Ziel hinausschießend, sogar ein Absinken des ACh. unter das vorherige Niveau und damit eine Erschlaffung bewirkt.

Der umgekehrte Effekt wurde bei Esterasezugabe nach vorheriger ACh.-Anwendung erzielt. Das vorher weitgehend zurückgedrängte ACh. wird durch den Esterasezusatz in einem solchen Umfang gebildet oder

„aktiviert", daß es zu der paradoxen Kontraktion kommt. Das Auftreten von rhythmischen Kontraktionen bei diesen Vorgängen spricht ebenfalls in diesem Sinne.

Dieses vorauszusetzende eigentümliche Verhalten des Systems ACh.-Esterase könnte, wie schon oben angedeutet, eine ganze Anzahl auch sonst vorliegender Beobachtungen an verschiedenen Objekten, besonders am vegetativen Nervensystem verständlich machen. Lullies und Meiners (9) haben auf Analogien bei anderen Vorgängen hingewiesen, bei denen ebenfalls die Vermehrung eines Partners Kräfte auslöst, die zu seiner Beseitigung führen, wobei die Gegenwirkung auch über das Ziel hinausschießen kann (etwa bei den sog. Abwehrfermenten, oder im System Glucose-Insulin). Selbstverständlich bedeutet ein solcher Erklärungsversuch mangels weiterer experimenteller Unterlagen vorläufig nur eine Möglichkeit der Deutung. Die Dinge liegen sicher verwickelter. Manches spricht dafür, daß in der Kette der Prozesse noch andere Stoffe (Aneurin, Kalium ?) mit eingeschaltet sind. Vor allem wird auch das Erfolgsorgan, hier der glatte Muskel, sich verschiedenen ACh.-Konzentrationen gegenüber verschieden verhalten können. Wenn trotzdem die obigen Beobachtungen hier kurz mitgeteilt werden, so geschieht es, weil auch der Kliniker im Hinblick auf die stark wechselnde Wirkung verschiedener Eingriffe am vegetativen Nervensystem und an glattmuskeligen Organen, bei denen meist das ACh. eine wesentliche Rolle spielen wird, ein Interesse daran hat, durch Heranziehung von Beobachtungen an einfachen Objekten Gesichtspunkte für eine Ordnung der vielfältigen Tatsachen zu gewinnen.

Zusammenfassung.

Am Blutegelpräparat wird die Wirkung des Acetylcholins und der Cholinesterase untersucht. Außer der bekannten Wirkung wurde unter geeigneten Bedingungen nicht nur das Auftreten von rhythmischen Kontraktionen, sondern auch eine Umkehr der gewöhnlichen ACh.- bzw. Esterasewirkung beobachtet. Es kommt an empfindlichen Präparaten nach vorausgegangener Einwirkung von Esterase auf Zugabe von ACh. zu einer Erschlaffung und umgekehrt nach ACh.-Vorbehandlung auf Esterasezusatz zu einer Kontraktion des Muskels. Es wird versucht, die Beobachtungen auf Grund eines Gleichgewichts besonderer Art, das zwischen ACh. und Esterase besteht, verständlich zu machen.

Literatur.

1 Göpfert, H., u. H. Schäfer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 93 (1940). — 2) 3) Führer, H.: Ebenda **82**, 81 (1918); **82**, 51 (1918). — 4) Minz, B.: Ebenda **168**, 292 (1932). — 5) v. Hueber: Dtsch. med. Wschr. **1942**, S. 483. — 6) Breitbach, A., u. H. J. Müsch: Pflügers Arch. **241**, 360 (1938). — 7) Müsch, H. J., u. C. Cüppers: Ebenda **244**, 50 (1940). — 8) Brecht, K.: Ebenda **246**, 553 (1943). — 9) Lullies, H., u. Meiners: Ebenda **246**, 525 (1943).

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Münster.
(Direktor: Professor Dr. E. Schütz.)

Über das Verhalten der Refraktärphase des Herzens bei Sympatoleinwirkung.

Von
Dr. med. **O. Rave,**
Stabsarzt d. Lw. (z. Z. im Felde).

Mit 1 Abbildung.

(Eingegangen am 11. Juli 1943.)

1. Einleitung und Fragestellung.

Zur genaueren Analyse der Refraktärphase des Herzens wurden von E. Schütz und B. Lueken (1—6) eingehende Untersuchungen über die Beziehungen zwischen dem einphasischen Aktionsstrom und der Refraktärphase des Herzens ausgeführt. Dabei ergaben sich enge Beziehungen zwischen der Dauer des monophasischen Stromes und der Refraktärphase. Denn am normalen Herzen stimmt die Dauer der absoluten Refraktärphase mit dem Plateau des monophasischen Stromes überein, und der abfallende Schenkel des monophasischen Aktionsstromes entspricht etwa spiegelbildlich dem Verlauf der Kurve der sich in der relativen Refraktärphase wiederherstellenden Erregbarkeit. Danach erweist sich also bei Anwendung rechteckiger Stromstöße, wie sie von Schütz und Lueken (3) angewandt wurden, die relative Refraktärphase als sehr kurz, so daß schon am Ende des monophasischen Stromes rechteckige Reizströme bei genau aufgesuchter Schwellenstromstärke wiederum wirksam sind (s. dazu Abb. 1). Diese festen Beziehungen zwischen Aktionsstrom und Refraktärphase bleiben auch bei veränderter Dauer des Erregungsvorganges durch Temperatureinflüsse und bei den abgeschwächten Erregungen der Extrasystolen erhalten. Da wir im ein-

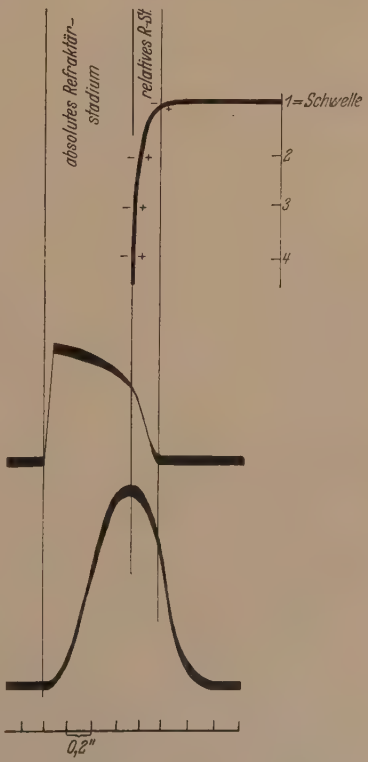


Abb. 1. Kurve der sich in der relativen Refraktärphase wieder herstellenden Erregbarkeit des Herzens (in ihren zeitlichen Beziehungen zum einphasischen Aktionsstrom und zur Kontraktionskurve (nach E. Schütz).

phasischen Aktionsstrom den Ausdruck und das Abbild des Erregungsvorganges an nur einer unverletzten Stelle des Herzmuskels erblicken [E. Schütz (1) (2)], ergibt sich daraus, daß der Vorgang der Erregung die Erregbarkeit des Herzens vernichtet, und erst mit dem Abklingen des Erregungsvorganges stellt sich die Erregbarkeit in einer ziemlich steilen Kurve wieder her. In der Sprache der Membrantheorie der Erregung bedeutet das, daß während der Dauer des Erregungsvorganges die Auflockerung der Membran eine maximale ist, so daß ein während des Plateaus des Aktionsstromes einfallender Reiz nicht beantwortet werden kann, und im abfallenden Schenkel des Aktionsstromes der früheste Zeitpunkt der Beantwortung von der Reizstärke abhängig ist („Alles oder Nichtsgesetz des Erregungsvorganges" nach E. Schütz). Diese normalen Beziehungen zwischen Aktionsstrom und Refraktärphase sind nach weiteren Untersuchungen von Schütz und Mitarbeitern unter verschiedenen Einwirkungen stärkerer Art teils erhalten, teils gelöst. Auch andere, weitere Untersuchungen ergaben, daß schon normalerweise mit der vollen Wiederherstellung der Erregbarkeit noch nicht wieder völlig normale Verhältnisse im Herzmuskel geschaffen sind, wie das z. B. an der Dauerverkürzung der abgeschwächten Erregungen der Extrasystolen deutlich wird (Schellong und Schütz). Es ergab sich z. B. in Untersuchungen von Schütz und Lüeken, daß unter Säureeinwirkung auf das Herz der Aktionsstrom verkürzt wird, dabei ist die absolute Refraktärphase kurz nach Ende des monophasischen Stromes beendet, während die relative Refraktärphase erheblich verlängert ist. Graphisch dargestellt verläuft also die Kurve der sich wiederherstellenden Erregbarkeit deutlich abgeflacht. Unter Kaliumeinwirkung bleibt bei den angewandten Konzentrationen die Dauer des monophasischen Stromes zunächst unverändert. Die absolute Refraktärphase überdauert meist das Ende des Aktionsstromes, und die relative Refraktärphase ist erst etwa 1 Sekunde nach Ende des Aktionsstromes beendet. Calcium dagegen verlängert den einphasischen Aktionsstrom, dabei entsprechen sich Aktionsstromplateau und absolute Refraktärphase noch sehr genau, und die relative Refraktärphase ist fast unmittelbar nach dem Ende der absoluten ebenfalls abgeschlossen. Der Wiederanstieg der Erregbarkeit erfolgt also sehr steil, fast momentan. Acetylcholin verkürzt, Adrenalin verlängert den Aktionsstrom. Bei Actylcholin überdauert die absolute Refraktärzeit die Plateaudauer bis zum Ende des Aktionsstromes. Bei Adrenalin entspricht, trotz Verlängerung des Aktionsstromes, die Dauer der absoluten Refraktärphase dem Aktionsstromplateau. Die relative Refraktärphase ist dabei ebenso wie unter Calciumeinwirkung auf ein Minimum verkürzt. Grundsätzlich ist also vor allem wichtig, daß mit der Verkürzung der Aktionsstromdauer die absolute Refraktärphase verkürzt und die relative Refraktärphase dabei recht erheblich verlängert sein kann, während umgekehrt die absolute Refraktärphase mit der Verlängerung des Aktionsstromplateaus ganz erheblich verlängert sein kann und dabei die relative Refraktärzeit auf ein Minimum verkürzt wird.

Die vielen sich widersprechenden Angaben der Literatur über die Wirkung eines Herzpharmakons auf die Refraktärphase des Herzens klären sich dadurch. Es ist also nötig, Untersuchungen dieser Art unter gleichzeitiger Aufschrift des einphasischen Aktionsstromes durchzuführen. Dabei wird weiter erforderlich, den einphasischen Aktionsstrom vom Reizort selbst abzuleiten. Dadurch wird der Fehler vermieden, daß die durch eine verzögerte Erregungsleitung bedingte verspätete Reizbeantwortung fälschlicherweise auf eine verlängerte Refraktärphase bezogen wird. Dieser Fehler hat einige Untersucher dazu geführt, für das Chinidin eine Verlängerung der Refraktärphase des Herzens anzunehmen und damit seine Wirksamkeit beim Vorhofflimmern zu erklären. Doch konnte in unserem Institut Th. Richter (7) bei Untersuchungen mit der Methode der Doppelreize und bei Ableitung vom Reizort zeigen, daß unter Chinidineinwirkung die Kurve der sich wiederherstellenden Erregbarkeit in der relativen Refraktärphase völlig normal verläuft. Auch die absolute Refraktärphase behält ihre Lage zum monophasischen Aktionsstrom völlig bei. So bestätigte sich wiederum die Notwendigkeit, pharmakologische Untersuchungen über die Beeinflussung der Refraktärphase des Herzens so auszuführen, daß neben dem chronotropen Einfluß auch Einflüsse der Erregungsleitung ausgeschaltet werden und die Prüfung vom Ableitungsort des Aktionsstromes aus vorgenommen wird. Zur exakten Darstellung der Ergebnisse bezüglich der sich wiederherstellenden Erregbarkeit muß dabei das Verhalten der Refraktärphase in Beziehung zum gleichzeitig aufgezeichneten monophasischen Aktionsstrom gesetzt werden.

Nachdem kürzlich über die Wirkungen des Chinidins berichtet wurde, sollen im folgenden weitere Untersuchungsergebnisse über das Verhalten der Refraktärphase des Herzens bei Sympatoleinwirkung mitgeteilt werden, und zwar interessierte im folgenden besonders die Frage, ob die eigenartigen von Schütz und Lueken für Adrenalin erhobenen Befunde auch unter Sympatoleinwirkung gefunden werden können. Während das Schrifttum über die Wirkungen des Sympatols auf den Blutdruck, die Herzfrequenz, die Größe des Minutenvolumens und auf die Herzkraft schon recht umfangreich ist, sind spezielle Untersuchungen über das Verhalten der Refraktärphase und der Erregbarkeit unter Sympatol nur wenig durchgeführt worden. Die klinische Beobachtung hat wiederholt gezeigt, daß das Sympatol bei kombinierter Verabfolgung mit Chinidin die schädigenden Wirkungen des letzteren abschwächt bzw. aufhebt. So wurde in der Literatur direkt von einer „Entgiftung" des Chinidins durch Sympatol gesprochen [1].

[1] Anmerkung von E. Schütz: Bei der Anregung zur Bearbeitung dieser Fragen wurde von folgender Arbeitshypothese ausgegangen: Nach den Angaben der Literatur war zu erwarten gewesen, daß Chinidin die Kurve der in der relativen Refraktärphase sich wiederherstellenden Erregbarkeit stark abflachen, also schräger legen würde. Andererseits hatten die früheren Adrenalinversuche ergeben, daß unter Adrenalin diese Kurve sogar steiler als normal verläuft. Es wurde daher vermutet, daß diese „Entgiftung" des Chinidins durch Sympatol — abgesehen von den verschiedenen inotropen Wirkungen dieser beiden Substanzen — möglicher-

Z. B. wurde die negativ inotrope Chinidinwirkung und der Blutdruckabfall nach Chinidin unter Sympatol erheblich gebessert [L. Kirchmann (8), W. Stepp und L. Kirchmann (9), Ch. Legel (10), S. V. Anitschkow und W. W. Sakussow (11)]. Im Zusammenhang damit prüfte Anitschkow das Verhalten der Erregbarkeit unter Sympatol-Chinidineinfluß und fand, daß am Langendorff-Herzen die durch Chinidin bewirkte Abnahme der Erregbarkeit des Herzens, geprüft mit dem Induktorium, durch das Sympatol unbeeinflußt bleibt, während gleichzeitig die Verschlechterung der Herzkraft durch Sympatol mehr oder minder aufgehoben wird. N. A. Micheew (12) fand ebenfalls, daß das Sympatol negativ bathmotrope Wirkungen eines anderen Stoffes, des Papaverins, auf das Herz nicht aufhebt. Während diese Autoren also keinen Einfluß auf die Erregbarkeit fanden, zeigte van Dongen (13), daß Parasympatol die Widerstandsfähigkeit der Vorhöfe und Kammern bei der Katze gegen durch künstlichen Reiz ausgelöste Extrasystolen, Tachykardien und Flimmern steigert, so daß auch bei starkem Faradisieren kein Flimmern auftritt. Zugleich mit einer Verkürzung der aurikulären und atrioventrikulären Überleitungszeit ergab sich überraschenderweise eine Verkürzung der refraktären Periode, während alle anderen flimmerwidrig wirksamen Substanzen eine Verlängerung der Refraktärphase hervorrufen. Die Beobachtung van Dongens steht im Einklang mit weiteren Beobachtungen, z. B. von P. Trendelenburg (14), G. Kuschinsky (15), daß Sympatol die durch Adrenalin nicht selten hervorgerufenen Irregularitäten gelegentlich beseitigt, und ferner mit der Beobachtung von K. Oberdisse (16), daß Sympatol bisweilen Arrhythmien beseitigen kann. Die Besserung des Herzflimmerns, der Extrasystolie und der Arrhythmien durch Sympatol kann wohl kaum durch die behauptete Verkürzung der Refraktärzeit erklärt werden und muß auf einem anderen Angriffspunkt beruhen. Da das Sympatol ganz allgemein eine adrenalinähnliche Wirkung besitzt, und da ferner nach Konzett und Weiß (17) Sympatol bei Ultravioletbestrahlung in Adrenalin übergehen kann, liegt es nahe, für das Sympatol eine adrenalinähnliche Wirkung auf die Refraktärphase anzunehmen.

Nach der Beobachtung von E. Schütz und B. Lueken (4) führt das Adrenalin am Froschherzen zur Verlängerung der Aktionsstromdauer von

weise darauf beruhen könnte, daß die Kombination von Chinidin und Sympatol durch die entgegengesetzte Wirkung dieser beiden Pharmaka auf die Steilheit des Erregbarkeitsanstiegs in der relativen Refraktärphase wieder normale Verhältnisse im Herzmuskel schaffe. Es wäre damit ein experimentell aufweisbarer Fall über die Wirksamkeit bestimmter Arzneimittelkombinationen gegeben. Zugleich interessierte es, ob durch solche verschiedenartigen Einwirkungen tatsächlich der physiologische Verlauf der Kurve der sich wiederherstellenden Erregbarkeit wiederhergestellt werden könne. Die tatsächlichen Versuchsergebnisse unter Chinidin allein und unter Sympatol allein entsprechen nicht den nach der Literatur zunächst anzunehmenden Erwartungen, so daß durch die Ergebnisse der Experimente diese ursprünglich geplante Arbeitshypothese hinfällig wurde. Wegen ihrer grundsätzlichen Bedeutsamkeit und zur Begründung der Tatsache, warum gerade Chinidin und Sympatol für diese Versuche ausgewählt wurden, sei sie aber trotzdem an dieser Stelle kurz mitgeteilt.

ungefähr 1 Sekunde auf 1,6—1,8 Sekunden. Am Ende des verlängerten Aktionsstromplateaus ist, wie auch normalerweise, die absolute Refraktärphase abgeschlossen, unmittelbar danach sind auch Schwellenreize bereits wiederum wirksam. Die Erholungskurve der Erregbarkeit verläuft daher außerordentlich steil, die relative Refraktärphase ist oft so kurz, daß sie kaum nachweisbar ist. Suprarenin zeigte den gleichen Befund. Da nun Sympatol sowohl nach seinem chemischen Aufbau sowie nach seinen meisten Wirkungen eine adrenalinähnliche Substanz darstellt, wurde auch hinsichtlich der Refraktärphase ein ähnliches Verhalten des Sympatols erwartet, wie es durch B. Lueken und E. Schütz für das Adrenalin gefunden wurde.

2. Methodik.

Die eigentlichen Versuche wurden nach Abschluß der methodischen Vorarbeiten in der Zeit von April und Mai 1942 ausgeführt. Die Untersuchungen wurden mit der von E. Schütz und B. Lueken (3) angegebenen Anordnung ausgeführt. Der monophasische Aktionsstrom wurde zu einem großen Edelmannschen Saitengalvanometer abgeleitet, wobei die an der stillgelegten Herzkammer angebrachte Verletzung durch Quetschung mit einer Pinzette quer über das Herz nahe der Herzspitze erzeugt wurde. Auf die äußerste Herzspitze wurde die indifferente Elektrode aufgesetzt, die differente Elektrode wurde auf die Kammermitte aufgesetzt und diente gleichzeitig als Reizkathode. Die Reizanode lag an der Kammerbasis. Der erste Reiz wurde als Leitungsreiz an der Kammerbasis durch ein Schlitteninduktorium gesetzt, der zweite Reiz, der Prüfreiz zur Untersuchung der Erregbarkeitsverhältnisse, wurde in variablem Zeitabstand als rechteckiger Stromstoß durch ein Helmholtz-Pendel erzeugt und in 10^{-6} Amp. gemessen. Großer Wert wurde auf genaue Schwellenbestimmung und auf Schwellenkonstanz gelegt und durch Einengung zwischen gerade noch beantworteter und nicht mehr beantworteter Reizstärke ein möglichst genauer Wert ermittelt. Dieser wurde nach jedem Doppelreizversuch nachkontrolliert. Nur solche Versuche wurden ausgewertet, bei denen dabei Schwellenkonstanz nachweisbar war. Dazu war es notwendig, möglichst schnell zu arbeiten, um Schwellenwanderungen zu entgehen. Es wurde unter feiner Abstufung der Stromstärke mit einem Kurbelrheostatensatz die größte Stromstärke aufgesucht, bei der gerade noch keine Reizbeantwortung erfolgt. Zur Prüfung gelangten folgende Konzentrationen von Sympatol-Ringerlösung: 1 : 20000, 1 : 80000, 1 : 160000, 1 : 320000, 1 : 640000, 1 : 1280000. Die Steigerung der verwandten Konzentrationen beträgt also zumeist das Doppelte der vorangehenden Lösung.

3. Ergebnisse.

Eine Reihe von Leerversuchen ergab, daß am frischen, unbehandelten Froschherzen die Kurve der sich wiederherstellenden Erregbarkeit den normalen von Lueken und Schütz (3—6) angegebenen Verlauf besaß.

Es entsprach hier das Plateau des monophasischen Stromes der absoluten Refraktärphase. Schwellenreize waren am Ende des monophasischen Stromes wieder wirksam. Die Gesamtzahl der verwertbaren Versuche mit Sympatoleinwirkung betrug 42. Bei Anwendung der unter den angewandten Lösungen stärksten Sympatolkonzentration von 1 : 5000 und 1 : 20000 war das Herz selbst bei nur 1 Minute langer Einwirkung meist für Induktionsreize unerregbar und für den weiteren Versuch unbrauchbar. Bei den übrigen Konzentrationen wurde allgemein eine Einwirkungsdauer von 5 Minuten gewählt.

Ganz allgemein entsprach das Untersuchungsergebnis nicht den Erwartungen. Die Kurve der sich wiederherstellenden Erregbarkeit verläuft am Sympatolherzen genau so wie am unbehandelten Herzen. Die absolute Refraktärphase fällt mit dem Plateau des monophasischen Stromes zusammen und die relative Refraktärphase weicht zugleich mit dem abfallenden Schenkel des monophasischen Stromes einer normalen Erregbarkeit, so daß am Ende des monophasischen Stromes einfache Schwellenreize schon wieder wirksam sind. Die bei Adrenalin beobachtete Verlängerung der Aktionsstromdauer und die dadurch bedingte Verlängerung der absoluten Refraktärphase wurde bei Sympatoleinwirkung ebenfalls nicht beobachtet. Bei den mittleren Konzentrationen betrug die Aktionsstromdauer wie normal rund 1 Sekunde, bei höheren Konzentrationen 1 : 20000, 1 : 80000 und 1 : 160000 ergaben sich etwas niedrigere Werte für die Aktionsstromdauer. Ebenso zeigte sich auch nicht die starke Verkürzung der relativen Refraktärphase, wie sie unter Adrenalineinwirkung zu verzeichnen war. Es ist also die Refraktärphase des Herzens unter Sympatol weder verkürzt noch verlängert. Eine schematische Darstellung der Befunde erübrigt sich daher, weil die Abbildung nicht von dem in Abb. 1 wiedergegebenen „Normalbefund" abweichen würde. Auch das Verhalten der Reizschwelle außerhalb der Refraktärphase läßt keine regelmäßigen Beziehungen zur angewandten Sympatolkonzentration erkennen. Jedenfalls bewirkte Sympatol in unseren Versuchen keine nachweisliche Erhöhung oder Erniedrigung der Reizschwelle, wie es von verschiedenen Autoren angenommen worden war. Die in der Literatur beschriebene günstige Wirkung der Kombination Chinidin-Sympatol kann also nicht auf eine „Normalisierung" der Refraktärphasenverhältnisse zurückgeführt werden, wie das ursprünglich vermutet wurde (s. Anm. S. 475), sondern es handelt sich dabei offenbar um rein inotrope Effekte; bei der Wirkung auf Herzirregularitäten mögen daneben noch chronotrope Wirkungen eine Rolle spielen. —

Einige Nebenbefunde seien im folgenden noch kurz angeführt:

Da das spontan schlagende Herz in die Sympatol-Ringerlösung gebracht wurde und erst nach 5 Minuten Einwirkungsdauer das Herz zum Versuch stillgelegt wurde, konnte das Verhalten der Frequenz unter

Sympatol gut verfolgt werden. Regelmäßig stieg die Frequenz an, wobei sich die positiv-chronotrope Wirkung des Sympatols erwies. Eine regelmäßige Beziehung zwischen der Frequenzzunahme und den verschiedenen Konzentrationen ließ sich aber nicht beobachten. — In auffallend großem Umfang gelangten unter Sympatol sog. „Aktionsphänomene" zur Beobachtung und Registrierung, so daß hier geradezu ein besonders geeignetes Mittel zu ihrer Auslösung gefunden zu sein scheint. Das Aktionsphänomen wurde zuerst von E. Schütz und B. Lueken (6) als Lokalerregung beschrieben. Es handelt sich um eine auf den Reizort beschränkt bleibende, stark abgeschwächte Erregung, die am unverletzten Herzen unter dem Einfluß von Kälte und anderen Mitteln innerhalb des Zeitraums der relativen Refraktärphase zu gewinnen ist und stets in einphasischer Form verläuft. C. E. Mehring und K. E. Rothschuh (18) konnten unter hypotonischen NaCl-Lösungen, besonders unter Aqua dest.-Einwirkung auch außerhalb der refraktären Phase solche Aktionsphänomene gewinnen. Bei allen verwandten Sympatolkonzentrationen und einer Einwirkungsdauer von 5 Minuten kamen die Aktionsphänomene oft in so großem Umfange zur Registrierung, daß geradezu die Auswertung der Versuche erschwert wurde. Sympatol wirkt auch hier ebenso wie auf die Refraktärphase anders als Adrenalin, von welchem diese starke Begünstigung des Auftretens von Aktionsphänomenen nicht bekannt ist. Zur weiteren Untersuchung bestimmter Fragen solcher Lokalerregungen, z. B. der Summation unterschwelliger Erregungen, erscheint die Sympatolvorbehandlung des Herzens daher besonders geeignet.

Zusammenfassung.

Im Gegensatz zu Adrenalin zeigt Sympatol in den Konzentrationen 1 : 20000, 1 : 80000, 1 : 160000, 1 : 320000, 1 : 640000, 1 : 1280000 (Sympatol : Ringerlösung) keinerlei Wirkung auf das Verhalten der Erregbarkeit in der Refraktärphase des Herzens. Bei unveränderter Dauer des einphasischen Aktionsstromes erweist sich die absolute Refraktärphase an die Plateaudauer des monophasischen Stromes gebunden. Die relative Refraktärphase entspricht ungefähr dem abfallenden Kurvenschenkel des einphasischen Aktionsstromes, so wie es von Schütz und Lueken als Normalbefund für das ungeschädigte und unvorbehandelte Herz beschrieben worden ist. Im Gegensatz zum unbehandelten Herzen treten unter Sympatoleinwirkung auffallend viele, als „Aktionsphänomene" bezeichnete Lokalerregungen auf.

Herrn Professor Dr. E. Schütz und Herrn Dozenten Dr. Rothschuh danke ich für vielfache freundliche Beratung. Die Firma C. H. Boehringer-Sohn, Ingelheim, unterstützte in dankenswerter Weise die Durchführung der Versuche.

Literatur.

1) Schütz, E.: Erg. Physiol. usw. **38**, 493 (1936). — 2) Schütz, E.: Verh. dtsch. Ges. Kreisl.forsch. XII, 1939, S. 15. — 3) Schütz, E., u. B. Lueken: Z. Biol. **96**, 364 (1935). — 4) Schütz, E., u. B. Lueken: Ebenda **96**, 508, 1935. — 5) Lueken, B., u. E. Schütz: Ebenda **99**, 186 (1938). — 6) Lueken, B., u. E. Schütz: Ebenda **99**, 338 (1939). — 7) Richter, Th.: Z. exper. Med. **110**, 216 (1942). — 8) Kirchmann, L. L.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 639 (1939). — 9) Stepp, W., u. L. Kirchmann: Münch. med. Wschr. **1939**, S. 433. — 10) Legel, Ch.: Ebenda **1941**, S. 248. — 11) Anitschkow, S. V., u. W. W. Sakassow: Z. exper. Med. **88**, 261 (1939). — 12) Micheew, N. A: Ebenda **96**, 272 (1935). — 13) van Dongen, H.: Arch. internat. Pharmacodynam. **62**, 261 (1939). — 14) Trendelenburg, P.: Dtsch. med. Wschr. **1930**, S. 1987. — 15) Kuschinski, G.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **156**, 290 (1930). — 16) Oberdisse, K.: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. XLVI. Tagg. 1934, S. 262. — 17) Konzett, H., u. W. Weiss: Klin. Wschr. **1938**, II, 1736. — 18) Mehring, C. E., u. K. E. Rothschuh: Z. Biol. **100**, 68 (1940).

Aus dem Pharmakologisch-Pharmakognostischen Institut der Deutschen Karls-Universität Prag (Direktor: Prof. Dr. G. Kuschinsky).

Untersuchungen über die zentralerregende Wirkung des Theophyllins*.

Von

H. Linke.

(Eingegangen am 31. Juli 1943.)

Das Theophyllin, das zur Gruppe der Purinkörper gehört, zeigt in seiner Wirkungsweise auf Herz, Kreislauf und Diurese ähnliche Symptome wie das Coffein. Auch die zentralerregende Wirkung des Coffeins hat eine Parallele in der Theophyllinwirkung. Größere Dosen rufen bei warmblütigen Tieren tetanische Krämpfe hervor. Ferner wurde bei diesen als Zeichen zentraler Erregung auch Bewegungsdrang, Unruhe und gesteigerte Atmungsfrequenz beobachtet. Bei Fröschen fand sich auch eine gesteigerte Reflexerregbarkeit nach Theophyllingabe (1). In neuerer Zeit hat G. Mühe (2) u. a. die zentralerregende Wirkung des Theophyllins an Mäusen dargestellt.

Obgleich also Coffein und Theophyllin zentrale Wirkungen zeigen, ist bisher nicht untersucht worden, ob Theophyllin auch imstande ist, wie Coffein, eine Steigerung intellektueller Leistungen zu erzeugen. Zweck der folgenden Untersuchungen war es, dieser Frage nachzugehen.

Methodik.

Die Versuche wurden an Versuchspersonen (VP.) in einem gewissen geistigen Ermüdungszustand in den Nachmittagsstunden nach 14 Uhr durchgeführt. Als VP. dienten vier weibliche und drei männliche im Alter von 18 bis 32 Jahren. Der geringere Teil der VP. war im Beruf mit geistiger Tätigkeit, der größere Teil mit körperlichen Arbeiten beschäftigt. Die Versuche wurden mit ähnlicher Methode durchgeführt, wie sie B. Pellmont (3) beschrieben hat. Um gleichmäßige Bedingungen zu erzielen, wurde eine Anzahl Vorkehrungen getroffen:

1. Vor Beginn der eigentlichen Versuche wurden je fünf Vorversuche durchgeführt, um eine Übersicht über die durchschnittlichen Nachmittagsleistungen zu erhalten.

2. Theophyllinbase wurde in Stärkekapseln in einer Dosis von 0,2 g per os gegeben. Durch Blutdruckmessung wurde eine deutliche resorptive Wirkung nach Ablauf einer halben Stunde gefunden.

* D 143.

3. Um psychische und körperliche Tagesschwankungen auszuschalten, wurde vor jedem Vollversuch ein Leerversuch durchgeführt zur Ermittlung der Tagesdisposition.

4. Um den Suggestionsfaktor auszuschalten, wurden die VP. weder über die Medikamente, deren Wirkung, noch über die Leerkapseln mit Talkum unterrichtet. Die Ermittlung der Tagesdisposition durch Leerkapseln geschah teils vor dem Vollversuch, teils nach Abklingen der Theophyllinwirkung; d. h. 3—4 Stunden nach der Einnahme. Dadurch sollten die VP. über den Gang der Untersuchungen im unklaren gelassen werden.

5. Um einen Übungsfortschritt zu vermeiden, wurden jedesmal bei der zweiten Untersuchung die Versuchsreihen umgestellt, ohne den Rahmen der Versuchsanordnung zu ändern.

Durch die große Anzahl der Einzelversuche (1200) und die Berechnung des mittleren Fehlers wurde versucht, Zufallsergebnisse auszuschalten.

Die Versuche umfassen: 1. Prüfung der psychischen Leistungsfähigkeit. 2. Geschicklichkeitsproben. 3. Kraftproben.

1. Prüfung der psychischen Leistungsfähigkeit in bezug auf Konzentration, Rechnen, Distanzgefühl und Merkfähigkeit.

   Additionsprobe: Auf einem Blatt Papier sind in quadratischer Anordnung die Zahlen 1—100 angegeben. Nun müssen zehnmal 10 ein- bis zweistellige Zahlen addiert werden, fünf Reihen in waagerechter und fünf in senkrechter Richtung. Für jede Probe wurde die Reihenfolge der Zahlen geändert. Das Ergebnis wurde nach der beanspruchten Zeit und nach der Richtigkeit der Lösungen bewertet.

   Zahlenaufsuchprobe: In quadratischer Anordnung sind ohne jede Ordnung die Zahlen 1—100 angegeben. Es wird die Zeit gemessen, die die VP. braucht, um 20 aufeinanderfolgende zweistellige Zahlen zu finden. Um eine Gedächtniswirkung auszuschalten, wurde mit zwei Tabellen abgewechselt und außerdem lag zwischen zwei Versuchsreihen eine Zeitspanne von mindestens 1 Tag.

   Zahlendeckprobe: Auf einem Karton sind 100 fortlaufend numerierte quadratische Felder angeordnet. Daneben liegen numerierte Kartonquadrate, die auf die beschriebenen Felder passen und mit diesen nun möglichst schnell zur Deckung gebracht werden müssen. Bewertet wird die dazu nötige Zeit.

2. Prüfung der manuellen Geschicklichkeit in bezug auf Schnelligkeit, Sicherheit und Koordination der Bewegungen.

   Perlentest: Auf zwei senkrecht gestellte Stahldrähte müssen 100 Perlen Stück für Stück mit der gleichen Hand möglichst schnell aufgefädelt werden. Bewertet wird die Zeit.

   Abfangversuch: Die VP. läßt durch ein Glasrohr einen Hartholzzylinder fallen, um ihn mit der gleichen Hand wieder aufzufangen. Bewertet wird die Anzahl in 2 Minuten.

Nadeleinsteckprobe: In ein Holzbrett sind 100 Löcher in quadratischer Anordnung gebohrt. Die VP. muß eine Nadel mit Faden nach einem bestimmten Schema durch alle Löcher führen. Bewertet wird die Zeit.

3. Kraftproben.

Hantelversuch: Es wird die Zeit gemessen, wie lange die VP. eine 5 kg schwere Hantel horizontal ausgestreckt halten kann. Dieser Versuch ermöglicht eine statische Energieprüfung unter Ausschaltung der Erholungsphase.

Expanderversuch: Ein 1-Feder-Expander wird von der VP. alle 2 Sekunden in Brusthöhe bei gestreckten Armen bis zum Unvermögen gezogen. Bewertet wird die Zahl der Züge.

Versuchsergebnisse.

Alle Versuche zeigen, wie aus der Übersicht der Tabelle ersichtlich, einen Ausschlag in der gleichen Richtung, nämlich im Sinne einer Leistungssteigerung. Eine Ausnahme besteht nur in den Ergebnissen der drei männlichen VP. beim Hantelversuch, wo sich eine Senkung zeigt, in der Tabelle durch negatives Vorzeichen gekennzeichnet. Alle Ergebnisse sind in Sekunden ausgedrückt. Als Basis für die Berechnung des Gesamtergebnisses dienten bei 7 VP. je 8 Versuchsreihen, d. h. zusammen 56. Da die vergleichbaren Werte, sowohl der Leerversuche wie der Vollversuche, von einer Einzelperson zur anderen oft beträchtlich schwankten, wurde dadurch der mittlere Fehler des Gesamtergebnisses belastet, d. h. mitunter größer als in den einzelnen Versuchsreihen. Aus diesem Grunde war es zweckmäßig, jeweils die Änderung der benötigten Zeit nach Theophyllin in Prozenten der Leerversuche auszudrücken. Dadurch war es möglich, die an sich gleichmäßigen Resultate besser darzustellen.

Additionsprobe: Eine deutliche Besserung der Leistung, ohne Beeinflussung der Richtigkeit der Lösungen.
Zahlenaufsuchprobe: Eine deutliche Besserung der Leistung.
Zahlendeckprobe: Kein Einfluß.
Perlentest: Kein wesentlicher Einfluß.
Abfangversuch: Kein wesentlicher Einfluß.
Nadeleinsteckprobe: Eine geringe Besserung der Leistung.
Hantelversuch: Bei den männlichen VP. eine deutliche Leistungssenkung; bei den weiblichen VP. kein Einfluß.
Expander: Eine deutliche Besserung der Leistung.

Besprechung der Ergebnisse.

Bei den Versuchen zur Prüfung des psychischen Leistungsvermögens ergab sich sowohl bei der Additionsprobe als auch bei der Zahlenaufsuchprobe, welche Übersicht und Konzentration prüfen sollte, eine deutliche

Tabelle 1.

	Zahlenwerte in Sekunden	Männliche VP.			Weibliche VP.				Gesamtergebnis
		No.	Bo.	Lo.	He.	Bi.	Dv.	Ji.	
Additionsprobe	Mittelwerte aus acht einzelnen Leerversuchen	223 (7) *	266 (8)	268 (8)	213 (6)	224 (9)	380 (28)	208 (8)	255
	Mittelwerte aus acht einzelnen Vollversuchen	196 (8)	246 (2)	239 (10)	191 (5)	209 (12)	355 (27)	184 (10)	231
	Differenz der Mittelwerte	27 = 12 %	20 = 8 %	29 = 11 %	22 = 10%	15 = 7 %	25 = 7 %	24 = 12 %	24 = 10 % (0,9)
Zahlenaufsuchprobe	Mittelwerte aus acht einzelnen Leerversuchen	107 (9)	135 (9)	174 (9)	113 (10)	124 (14)	195 (11)	120 (9)	138
	Mittelwerte aus acht einzelnen Vollversuchen	90 (9)	119 (8)	157 (8)	92 (9)	100 (13)	147 (7)	100 (12)	115
	Differenz der Mittelwerte	17 = 16 %	16 = 12 %	17 = 10 %	21 = 19%	24 = 19 %	48 = 25 %	20 = 17 %	23 = 17 % (1,9)
Zahlendeckprobe	Mittelwerte aus acht einzelnen Leerversuchen	171 (2)	184 (4)	182 (4)	167 (4)	166 (4)	224 (8)	185 (5)	183
	Mittelwerte aus acht einzelnen Vollversuchen	163 (3)	174 (10)	179 (2)	155 (5)	169 (6)	234 (13)	175 (7)	179
	Differenz der Mittelwerte	8 = 5 %	10 = 5 %	3 = 2 %	12 = 7 %	-3 = -2 %	-10 = -4 %	10 = 5 %	4 = 2 % (1,2)
Perlentest	Mittelwerte aus acht einzelnen Leerversuchen	154 (3)	172 (3)	163 (2)	140 (5)	143 (5)	192 (6)	156 (5)	160
	Mittelwerte aus acht einzelnen Vollversuchen	150 (3)	169 (3)	159 (2)	135 (5)	133 (4)	184 (6)	149 (6)	154
	Differenz der Mittelwerte	4 = 3 %	3 = 2 %	4 = 2 %	5 = 4 %	10 = 7 %	8 = 4 %	7 = 4 %	6 = 4 % (0,7)
Abfangversuch	Mittelwerte aus acht einzelnen Leerversuchen	85 (3) **	90 (4)	95 (2)	89 (3)	83 (3)	66 (4)	82 (2)	84
	Mittelwerte aus acht einzelnen Vollversuchen	88 (2)	95 (3)	96 (3)	93 (5)	91 (3)	74 (4)	90 (2)	89
	Differenz der Mittel-								

Tabelle 1 (Fortsetzung).

	Zahlenwerte in Sekunden	Männliche VP.			Weibliche VP.				Gesamtergebnis
		No.	Bo.	Lo.	He.	Bi.	Dv.	Ji.	
Nadeleinsteckprobe	Mittelwerte aus acht einzelnen Leerversuchen	81 (2)	84 (3)	56 (2)	85 (3)	73 (3)	117 (4)	84 (3)	83
	Mittelwerte aus acht einzelnen Vollversuchen	74 (2)	80 (2)	53 (2)	80 (3)	68 (3)	112 (3)	79 (3)	78
	Differenz der Mittelwerte	7 = 9 %	4 = 4 %	3 = 5 %	5 = 6 %	5 = 7 %	5 = 4 %	5 = 6 %	5 = 6 % (0,7)
Mantelversuch	Mittelwerte aus acht einzelnen Leerversuchen	70 (1)	109 (3)	94 (3)	19 (2)	26 (2)	24 (1)	51 (2)	91 ♂ 30 ♀
	Mittelwerte aus acht einzelnen Vollversuchen	60 (2)	72 (4)	70 (3)	20 (1)	27 (1)	25 (1)	48 (2)	67 ♂ 30 ♀
	Differenz der Mittelwerte	−10 = −14 %	−37 = −34%	−24 = −26%	1 = 5%	1 = 4 %	1 = 4 %	−3 = −6 %	−24 = −26% (5,9) ♂ 0 = 0 % ♀
Expanderversuch	Mittelwerte aus acht einzelnen Leerversuchen	52 (3) **	100 (13)	97 (8)	32 (2)	37 (4)	34 (4)	42 (3)	60
	Mittelwerte aus acht einzelnen Vollversuchen	58 (3)	139 (25)	127 (1)	36 (2)	44 (3)	43 (6)	58 (6)	77
	Differenz der Mittelwerte	6 = 12 %	39 = 39 %	30 = 31%	4 = 13%	7 = 19 %	9 = 26 %	16 = 38 %	17 = 28 % (4,4)

* In Klammern der mittlere Fehler. — ** Zahlenwerte des Abfang- und Expanderversuchs geben nicht Sekunden, sondern die Anzahl der Leistungen an.

Leistungssteigerung. Anscheinend war sie bei den VP. am stärksten, die auch sonst geistige Leistungen zu vollbringen hatten (No. und Ji.). Bei der Zahlendeckprobe hingegen ist eine Leistungssteigerung bei einzelnen VP. auch noch ersichtlich, bei den anderen ist aber eine Verschlechterung eingetreten, so daß das Gesamtergebnis keinen deutlichen Ausschlag zeigt. Das nicht so einheitliche Ergebnis dieses Versuchs ist vielleicht darin zu suchen, daß die VP. unter Theophyllinwirkung die Arbeiten hastig und etwas zittrig vollführten. Da bei dieser Probe Zahlenreihen mit bestimmten Zahlenquadraten abzudecken waren, erfuhr die an sich wohl vorhandene Erhöhung der intellektuellen Leistung eine Abschwächung durch die motorische Unruhe, ein Faktor, der bei den ersten beiden Versuchen nicht in Betracht kam, da es sich hierbei um rein geistige Arbeit handelte.

Bei der zweiten Gruppe handelte es sich um Versuche zur Erprobung der manuellen Geschicklichkeit. Hierbei zeigten sich nur geringe positive Ausschläge, die aber zum größten Teil noch an der Grenze der Streuung liegen. Bei diesen Versuchen, bei denen es fast ausschließlich auf manuelle Leistungen ankommt, kann man fast von keinem Einfluß des Theophyllins im Sinne einer Leistungssteigerung mehr sprechen, da hier vielleicht das motorische Unruhemoment überwiegend seinen negativen Einfluß geltend macht.

Da alle übrigen Versuche bei beiden Geschlechtern einen Ausschlag in derselben Richtung zeigten, so fiel bei den männlichen VP. im Hantelversuch ein erheblicher Rückgang der Leistung besonders auf. Dagegen ergibt sich bei den weiblichen VP. überhaupt kein Ausschlag. Dieses Absinken der Leistung kann weder durch einen äußeren Einfluß noch durch Ermüdung zustande gekommen sein, da bei strengster Kontrolle eine genügend lange Zeitspanne zwischen dem Leer- und Vollversuch gelassen wurde. Der Expanderversuch zeigte dagegen bei beiden Geschlechtern einen erheblichen Leistungszuwachs. Diese Ergebnisse stehen in einem scheinbaren Gegensatz zu den Hantelversuchen. Aber in dem einen Falle handelt es sich um statische, im anderen um dynamische Leistungen. Die Verschlechterung nach Theophyllin im Hantelversuch muß wohl darauf zu beziehen sein, daß die Erholungsphase ausgeschaltet war.

Im ganzen ähnliche Ergebnisse hatte auch B. Pellmont mit Coffein, das bei den Proben zur Feststellung der psychischen Leistungsfähigkeit gleichfalls eine wesentlich höhere Leistungssteigerung ergab, als bei den manuellen Geschicklichkeitsproben. Trotzdem ergaben aber auch diese eine Leistungssteigerung, was bei dem Theophyllin nicht der Fall war. Daraus läßt sich vielleicht eine größere motorische Unruhe durch Theophyllinwirkung folgern, wenn nicht der Unterschied in der größeren Dosis von 0,2 g Theophyllin zu suchen ist; denn Pellmont hat nur etwa 0,1 g Coffeinbase verabfolgt. Auch der größere Ausschlag, den Pellmont bei den rein intellektuellen Leistungen erzielte, könnte auf dem Unterschied

der Dosen beruhen, wenn nicht die verschiedene chemische Konstitution hierfür die Ursache ist.

Im allgemeinen fühlten sich die VP. nach Theophyllingabe leicht angenehm erregt, wobei es objektiv auffiel, daß die VP. ihre Arbeiten hastig und unruhig vollbrachten.

Zusammenfassung.

Bei den VP. zeigte sich nach 0,2 g Theophyllin per os eine deutliche Erhöhung der geistigen Leistungsfähigkeit bei verschiedenen Testen, ferner eine geringe Erhöhung der manuellen Geschicklichkeit in einem Test. Bei einer Koppelung der geistigen Tätigkeit mit manuellen Arbeiten wurde keine Steigerung der Leistung erzielt. Im Hantelversuch wurde das Ergebnis bei den männlichen VP. verschlechtert, bei den weiblichen nicht verändert.

Literatur.

1) Ältere Literatur s. im Handb. exper. Pharmak., Bd. II, 1. Hälfte. — 2) Mühe, G.: Diss. Hamburg 1941, zit. nach Ber. Physiol. usw. **124**, 111 (1941). — 3) Pellmont, B.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **199**, 274 (1942).

Aus dem Pharmakologisch-Pharmakognostischen Institut der Deutschen Karls-Universität in Prag (Direktor Prof. Dr. G. Kuschinsky).

Untersuchungen über die Wirkung von Nikotin auf psychische und physische Leistungen des Menschen*.

Von

Robert Erdélyi.

(Eingegangen am 31. Juli 1943.)

Ein großer Teil der Raucher ist der Meinung, daß durch das Rauchen einer Zigarre oder einer Zigarette sowohl Ermüdungen zum Verschwinden gebracht werden können, als auch eine bestehende Übererregbarkeit des Menschen verringert wird. Hull (1) hat gezeigt, daß unter experimentellen Bedingungen geistige Leistungen durch das Rauchen erhöht werden. Mendenhall (2) hat nachgewiesen, daß die Wirkung des Tabakrauchens je nach der Stimmungslage erregend oder hemmend auf das Nervensystem sein kann. Es ist jedoch noch nicht erwiesen, daß diese Wirkungen dem Nikotin selbst zuzuschreiben sind; ja es wird sogar diskutiert, ob es sich nicht um rein suggestive Wirkungen handeln könnte.

Wahl (3) und Heubner (4) haben bereits über Versuche berichtet, bei denen keine Wirkungen von Nikotin auf intellektuelle Leistungen zu beobachten waren. Es ist möglich, daß diese Experimente deswegen keine besonderen Ergebnisse brachten, weil die Versuche am Vormittag durchgeführt wurden und die Versuchspersonen ausgeruht waren und daher keine Leistungsverbesserungen zeigen konnten. Ich habe deshalb ähnliche Versuche mit ermüdeten Personen angestellt, um die Wirkung des Nikotins zu erproben.

Methodik.

Die Versuche wurden nur zur Zeit der physiologischen Ermüdung nach dem Mittagessen durchgeführt. Als Vp. dienten drei männliche Raucher und vier weibliche Nichtraucherinnen. Ihr Alter bewegte sich zwischen 18 und 32 Jahren. Es handelte sich nur zum Teil um Vp., die regelmäßig vorwiegend geistig tätig waren. Alle Versuche wurden genauestens überwacht und durchgeführt, um äußere Einflüsse und Ablenkungen auf ein Mindestmaß herabzudrücken. Insgesamt wurden bei jeder Vp. je fünf Vorversuche, acht Nikotinversuche (NV.) und achtmal die Tagesdisposition der Vp. durchgeführt (LV.). Die zeitliche Anordnung der Versuche lag stets gleich, und zwar 3—5 Stunden nach dem Mittagessen, so daß eine Ermüdung mit Sicherheit angenommen werden konnte.

* D 143.

Die Nikotindosen betrugen bei den vier Nichtrauchern 6 mg (entsprechend 2 mg reiner Nikotinbase) und bei den drei Rauchern 9 mg Nikotintartrat (entsprechend 3 mg Base), das mit Sacharum lact. gemischt war. Die Verabreichung erfolgte in Stärkekapseln. 5 Minuten nach Verabreichung des Nikotintartrats wurde mit den Versuchen begonnen. Eine Suggestion kann völlig ausgeschaltet werden, da die Vp. niemals davon orientiert waren, ob sie Leerkapseln verabreicht bekamen oder nicht. Ebenso entzog es sich ihrer Kenntnis, daß es sich hier um Nikotinversuche handelte. Unangenehme Nebenwirkungen wurden in keinem Falle beobachtet.

Der Übungsfortschritt konnte nicht zur Auswirkung kommen, da die Reihenfolge der Versuche gewechselt wurde (z. B. bei der Additionsprobe, Vertauschung der Zahlenreihen).

Die Prüfungen umfassen Kraft- und Geschicklichkeitsproben, und zwar Hantelversuch, Expanderversuch, Nadeleinsteckprobe, Perlentest, Abfangversuch. Zur Ermittlung der geistigen Konzentration wurden Additions-, Zahlaufsuch- und Zahlendeckproben verwendet. Im einzelnen wurden die Versuche in derselben Weise durchgeführt, wie in der vorhergehenden Arbeit von Linke über das Theophyllin beschrieben. Im ganzen wurde mit ähnlicher Methode gearbeitet wie bei Pellmont (5).

Die Verabreichung der Medikamente erfolgte folgendermaßen: Zuerst wurde die Tagesdisposition festgestellt, nachdem vorher eine Leerkapsel (mit Talkum) geschluckt wurde. Hierauf wurden alle Versuche durchgeführt. Dann erhielt die Vp. eine Kapsel mit Nikotin, worauf die Versuchsreihen wiederholt wurden.

Ergebnisse der Versuche.

Die Perlentestprobe, die als Geschicklichkeitsprobe anzusehen ist, zeigte nach der ersten und zweiten Halbzeit eine kleine Leistungssteigerung. Diese und die folgenden Ergebnisse sind in der Tabelle zusammengestellt.

Die Nadeleinsteckprobe zeigte noch etwas bessere Ergebnisse als der Perlentest.

Eine kleine Leistungssteigerung war auch beim Abfangversuch zu verzeichnen.

Die Prüfung des Überblicks und der Konzentration durch die Zahlendeckprobe ergab keine Erhöhung der geistigen Konzentration.

Bei der Zahlenaufsuchprobe konnte ein Einfluß nicht nachgewiesen werden (nicht in der Tabelle aufgeführt).

Der deutlichste Einfluß zeigte sich bei der Additionsprobe, bei der die Leistungen stiegen, und gleichzeitig die richtigen Lösungen erhöht wurden.

Alle Kraftproben wiesen wesentliche Leistungsverminderungen auf. Der Hantelversuch und Expanderversuch brachten bei den weiblichen Vp. größere Leistungsverminderungen als bei den männlichen.

Tabelle 1

	Zahlenwerte in Sekunden	Raucher 9 mg männlich			Nichtraucher 6 mg weiblich			Gesamtergebnis
Perlen I †	Mittelwerte aus acht einzelnen Leerversuchen	76 (2) *	85 (2)	84 (2)	79 (1)	64 (1)	70 (3)	105 (3)	80
	Mittelwerte aus acht einzelnen Vollversuchen	73 (2)	82 (1)	80 (1)	76 (3)	60 (1)	61 (3)	94 (2)	75
	Differenz der Mittelwerte	3 = 4%	3 = 4%	4 = 5%	3 = 4%	4 = 6%	9 = 13%	11 = 10%	5 = 6% (1)
Perlen II †	Mittelwerte aus acht einzelnen Leerversuchen	154 (1)	175 (3)	166 (1)	156 (3)	127 (1)	141 (2)	206 (7)	161
	Mittelwerte aus acht einzelnen Vollversuchen	153 (2)	171 (3)	161 (4)	149 (3)	123 (1)	121 (4)	185 (1)	152
	Differenz der Mittelwerte	1 = 0%	4 = 2%	5 = 3%	7 = 4%	4 = 3%	20 = 14%	21 = 10%	9 = 6% (2)
Zahlendeckprobe	Mittelwerte aus acht einzelnen Leerversuchen	166 (1)	212 (9)	192 (5)	179 (4)	176 (2)	171 (4)	227 (5)	181
	Mittelwerte aus acht einzelnen Vollversuchen	158 (1)	164 (3)	182 (4)	164 (4)	169 (2)	157 (6)	223 (8)	174
	Differenz der Mittelwerte	8 = 5%	48 = 22%	10 = 5%	15 = 8%	7 = 4%	14 = 8%	4 = 1%	7 = 4% (3)
Additionsprobe	Mittelwerte aus acht einzelnen Leerversuchen	231 (7)	249 (7)	253 (4)	208 (8)	208 (6)	210 (5)	441 (17)	257
	Mittelwerte aus acht einzelnen Vollversuchen	206 (6)	226 (12)	239 (6)	203 (7)	180 (7)	183 (4)	337 (13)	225
	Differenz der Mittelwerte	25 = 11%	23 = 9%	14 = 6%	5 = 2%	28 = 13%	27 = 13%	104 = 24%	32 = 12% (3)
Auffangversuch	Mittelwerte aus acht einzelnen Leerversuchen	88 (2) **	92 (3)	96 (2)	83 (1)	97 (2)	84 (2)	68 (2)	87
	Mittelwerte aus acht einzelnen Vollversuchen	93 (2)	96 (4)	100 (2)	91 (1)	102 (2)	98 (1)	71 (3)	93
	Differenz der Mittel-								

	Zahlenwerte in Sekunden	Raucher 9 mg männlich			Nichtraucher 6 mg weiblich			Gesamtergebnis
Nadel I †	Mittelwerte aus acht einzelnen Leerversuchen	40 (2)	47 (2)	32 (1)	49 (2)	38 (1)	40 (1)	61 (2)	44
	Mittelwerte aus acht einzeluen Vollversuchen	37 (1)	41 (3)	27 (1)	45 (1)	33 (1)	36 (1)	57 (2)	40
	Differenz der Mittelwerte	3 = 8%	6 = 13%	5 = 16%	4 = 8%	5 = 13%	4 = 10%	4 = 7%	4 = 9% (1)
Nadel II †	Mittelwerte aus acht einzelnen Leerversuchen	78 (1)	87 (3)	60 (3)	94 (4)	76 (1)	84 (3)	111 (3)	84
	Mittelwerte aus acht einzelnen Vollversuchen	74 (1)	84 (4)	52 (2)	90 (3)	67 (1)	71 (2)	107 (4)	78
	Differenz der Mittelwerte	4 = 5%	3 = 3%	8 = 13%	4 = 4%	9 = 12%	13 = 15%	4 = 4%	6 = 7% (2)
Hantel	Mittelwerte aus acht einzelnen Leerversuchen	66 (1)	107 (4)	94 (3)	46 (0)	31 (1)	25 (1)	20 (1)	♂ 89 ♀ 31
	Mittelwerte aus acht einzelnen Vollversuchen	60 (3)	88 (4)	82 (4)	40 (1)	26 (1)	21 (1)	17 (1)	♂ 77 ♀ 26
	Differenz der Mittelwerte	6 = − 9%	19 = − 18%	12 = − 12%	6 = − 13%	5 = − 16%	4 = − 16%	3 = − 15%	♂ 12 = − 13% (3) ♀ 5 = − 16% (1)
Expander	Mittelwerte aus acht einzelnen Leerversuchen	58 (2) **	90 (12)	90 (8)	44 (2)	50 (1)	34 (2)	39 (3)	♂ 79 ♀ 42
	Mittelwerte aus acht einzelnen Vollversuchen	57 (3)	81 (10)	80 (7)	38 (2)	45 (1)	31 (2)	32 (3)	♂ 73 ♀ 37
	Differenz der Mittelwerte	1 = − 2%	9 = − 10%	10 = − 11%	6 = − 14%	5 = − 10%	3 = − 9%	7 = − 18%	6 = − 8% (3) 5 = − 12% (4)

* In Klammern der mittlere Fehler. — ** Zahlenwerte des Expander- und Abfangversuchs geben nicht Sekunden, sondern die Anzahl der Leistungen an. — † Perlentest I bzw. II und Nadeleinsteckversuch I bzw. II jeweils nach der ersten bzw. zweiten Halbzeit.

Besprechung der Ergebnisse.

Aus den Versuchsresultaten ist ersichtlich, daß durch das Rauchen zum mindesten nicht nur Suggestionswirkungen erzielt werden. Das Nikotin selbst kann also der Urheber der geistigen Leistungssteigerungen sein. Es wird demnach nicht trotz, sondern wegen des Nikotins geraucht. Daß Nikotin eine körperliche Schädigung hervorruft (z. B. im Sport) ist schon länger bekannt und wird hier wieder experimentell bestätigt. Steinmann und Voegeli (6) haben dies neuerdings beim Menschen am Kreislauf nachgewiesen. Kuschinsky und Hotovy (7) zeigten die coffeinähnliche zentralerregende Wirkung im Tierversuch. Auch meine Versuche sprechen jedenfalls in bezug auf die geistige Tätigkeit für eine Ähnlichkeit mit Coffein. Die körperlichen Wirkungen sind dagegen beim Nikotin schlechter. Daß Genußwirkungen und die Schädigungen nach Rauchen durch Nikotin allein hervorgerufen werden, soll nicht behauptet werden. Es spielen dabei wohl auch noch andere Stoffe eine Rolle.

Zusammenfassung.

Nikotintartrat per os in Dosen von 6 bzw. 9 mg verabreicht, steigert beim ermüdeten Menschen deutlich die geistigen Leistungen, während es körperliche herabsetzt. Die manuelle Geschicklichkeit wird ebenfalls etwas erhöht.

Literatur.

1) Hull: Psychol. Monogr. (Am.) **33**, 1 (1924); zit. nach Hesse: Rausch- u. Genußgifte (1938). — 2) Mendenhall: Amer. J. Physiol. **72**, 549 (1928); zit. nach Hesse: a. a. O. — 3) Wahl: Z. exper. Med. **10**, 352 (1920). — 4) Heubner: Nauheim. Fortbild.lehrg. 13. Herz- und Gefäßkrankheiten. — 5) Pellmont: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **199**, 274 (1942). — 6) Steinmann u. Voegeli: Dtsch. Arch. klin. Med. **189**, 303, 1942. — 7) Kuschinsky u. Hotovy: Klin. Wschr., im Druck.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Die Reduktion des Hämiglobins in den Erythrocyten verschiedener Tiere.

Von

Manfred Kiese und **Bernhard Weis.**

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 30. Juli 1943.)

In der Pharmakologie der Stoffe, die Hämiglobin (Methämoglobin) bilden, ist es schon lange bekannt, daß diese Wirkung bei verschiedenen Tieren sehr ungleich ist, daß die Katze ein „guter Hämiglobinbildner" und das Kaninchen ein „schlechter Hämiglobinbildner" ist, und daß ferner Hämiglobin aus dem Blute des Kaninchens besonders schnell verschwindet. Durch Injektion hämiglobinhaltiger Erythrocyten, die vom hämiglobinbildenden Stoff freigewaschen waren, und Messung der Abnahme der Hämiglobinkonzentration konnte dieser Unterschied im Verhalten verschiedener Tiere dahin aufgeklärt werden, daß Katze[1,2], Ratte, Kaninchen[3], Meerschweinchen[4] und Hund[5] Hämiglobin verschieden schnell reduzieren. Durch eine Reihe von Untersuchungen verschiedener Autoren ist erwiesen, daß diese Reduktion in den Erythrocyten stattfindet, und daß im Erythrocyten selbst die reduzierenden Stoffe gebildet werden. Sie sind fermentativer Natur, sie werden durch geeignete Substrate in eine reduzierte Form übergeführt und reduzieren dann das Hämiglobin. Durch Warburg, Kubowitz und Christian[6], Wendel[7], Schapott[8] und Kiese[9] sind diese fermentativen Prozesse der Hämiglobinreduktion schon zum Teil aufgeklärt worden. Nach den bisherigen Untersuchungsergebnissen stehen zwei Reaktionen nebeneinander: die eine Reaktion braucht phosphorylierte Hexose als Substrat. Hexosemonophosphat wird von dem von Warburg, Kubowitz und Christian[6] aufgefundenen „Zwischenferment" und Co-Ferment (Triphosphopyridinnucleotid) dehydriert. Das reduzierte Co-Ferment reduziert dann durch Vermittlung eines von Kiese[9] nachgewiesenen weiteren Ferments (Hämiglobinreduktase) das Hämiglobin. Diese Reaktion wird durch bestimmte reversibel oxydierbare Farbstoffe stark beschleunigt. Bei der anderen Reaktion wird, wie Wendel[7]

[1] Heubner, W., u. H. Möbus: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 223 (1938). — [2] Jung, F.: Ebenda **192**, 464 (1939). — [3] Gelinski, G.: Ebenda **195**, 460 (1940). — [4] Kunz, G.: Ebenda **199**, 508 (1942). — [5] Kiese, M.: Unveröffentlichte Untersuchungen 1941. — [6] Warburg, O., F. Kubowitz u. W. Christian: Biochem. Z. **227**, 245 (1930). — [7] Wendel, W. B.: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **28**, 401 (1931); J. biol. Chem. (Am.) **102**, 373, 385 (1932). — [8] Schapott, W. S.: Biochimija **3**, 430 (1938). — [9] Kiese, M.: Biochem. Z., im Druck.

fand, Milchsäure dehydriert und dabei von einem entsprechenden Fermentsystem das Hämiglobin reduziert. Die Reaktion wird von reversibel oxydierbaren Farbstoffen nicht — oder nur in belanglosem Ausmaß — beschleunigt. Mit der näheren Analyse dieses Systems sind wir zur Zeit noch beschäftigt.

In den hier zu beschreibenden Untersuchungen haben wir die Geschwindigkeit der Reduktion des Hämiglobins in den Erythrocyten verschiedener Tiere gemessen unter Verwendung der beiden bisher bekannten Substrate, um zu prüfen, ob der Anteil der beiden Substrate, an der Reduktion stets gleich ist und ob überhaupt die Reduktionsgeschwindigkeit in vitro der in vivo entspricht.

Methoden.

Zur Messung der Geschwindigkeit der Reduktion des Hämiglobins in den Erythrocyten verschiedener Tiere wurden Bedingungen gewählt, unter denen diese Reaktionsgeschwindigkeit einwandfrei bestimmt werden kann. Es mußte vornehmlich die Neubildung von Hämiglobin ausgeschlossen werden. Die Versuche wurden unter Kohlenoxyd durchgeführt, um den Sauerstoff auszuschalten und das durch Reduktion aus dem Hämiglobin entstehende Hämoglobin durch Bindung an Kohlenoxyd der Oxydation durch womöglich noch vorhandene Spuren von Sauerstoff zu entziehen. Die Bestimmung der Reduktionsgeschwindigkeit erfolgte auf zwei Wegen.

Erythrocyten wurden mit einem großen Überschuß von Nitrit behandelt, um möglichst alles Hämoglobin in Hämiglobin zu überführen, und dann das Nitrit durch wiederholtes Waschen mit Ringerlösung wieder entfernt. Bei Hund, Katze und Mensch wurden so Erythrocyten erhalten, in denen fast alles Hämoglobin oxydiert war. In den Meerschweinchen- und Kaninchenerythrocyten wurde oft nicht vollständige Umwandlung erreicht. Vermutlich wurde in diesen Zellen mit viel reduzierenden Fermenten und nicht auswaschbarem Substrat schon während des Waschens wieder ein Teil des Hämiglobins reduziert.

Diese Erythrocyten wurden dann in geeigneter Konzentration in Phosphat-Ringer-Lösung (1 Teil 0,1 mol Phosphat p_H 7,3 und 3 Teile Ringer-Lösung) aufgeschwemmt, nach Zusatz des Substrats in ein Tonometer gebracht, schnell mit Kohlenoxyd gesättigt und nach Entnahme einer Probe unter Kohlenoxydatmosphäre in einen Thermostaten von 37° gebracht. In Abständen von 30—60 Minuten wurden Proben entnommen und der Hämiglobingehalt nach der Methode von Havemann, Jung und v. Issekutz [10] bestimmt. Gesamthämoglobin wurde nach Oxydation mit Ferricyanid ebenfalls als Hämiglobin bestimmt.

[10] Havemann, R., F. Jung u. B. v. Issekutz: Biochem. Z. **301**, 116 (1939).

In anderen Versuchen wurde die Geschwindigkeit der Reduktion durch manometrische Bestimmung des vom reduzierten Hämoglobin aufgenommenen Kohlenoxyds gemessen. Die Messungen wurden im Warburg-Apparat unter Verwendung kegelförmiger Gefäße durchgeführt. Die Flüssigkeitsmenge betrug 3,6 ccm.

Die Geschwindigkeit der Reduktion ist unter anderem abhängig von der wirkenden Fermentmenge, d. h. der Zahl der Erythrocyten. Sie wurde darum jeweils auf eine bestimmte Zahl bezogen, und zwar geben wir sie an als die Hämiglobinmenge in γ, die in 1 Stunde von 1 Million Erythrocyten reduziert wurde. Da nach Beobachtungen von Kiese[9] die Geschwindigkeit der Hämiglobinreduktion unter sonst gleichen Bedingungen bis hinab zu Konzentrationen von 1—2 % von der Hämiglobinkonzentration unabhängig ist, ist dieses Maß allgemein vergleichbar.

Die Reduktionsgeschwindigkeit wurde sowohl für die Reduktion durch Glucose wie durch Lactat gemessen und außerdem bei beiden Substraten der Einfluß von Nilblau auf die Reduktionsgeschwindigkeit bestimmt. Wenn nicht anders angegeben, wurde Glucose in einer Konzentration von 0,25 %, Lactat von 0,02 % und Nilblau von 0,0014 % verwendet. Dabei waren die betreffenden Fermente durch die genannten Konzentrationen von Glucose und Nilblau gesättigt. Die Lactatkonzentration entsprach etwa physiologischen Konzentrationen beim Menschen, war jedoch von der Sättigung des Ferments weit entfernt (Kiese[9]).

Ergebnisse.

Zur Veranschaulichung der Versuchsergebnisse, die im wesentlichen in den folgenden Tabellen niedergelegt sind, sei in Abb. 1 eine Versuchs-

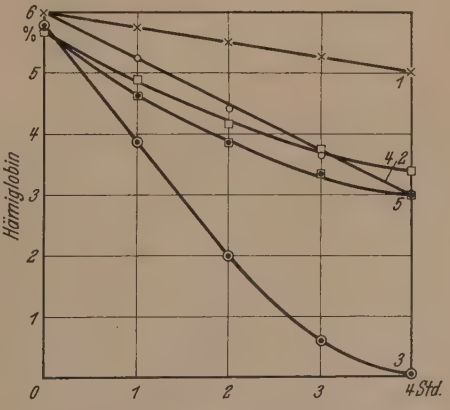


Abb. 1. Reduktion von Hämiglobin in Hundeerythrocyten. Messung der Reduktionsgeschwindigkeit durch kolorimetrische Hämiglobinbestimmung in Abständen von 60 Minuten. Gesamthämoglobin 6,2 %, Glucose 0,25 %, Lactat 0,02 %, Nilblau 0,0014 %, Gasraum CO, Temp. 37°.
Kurve 1 (× × ×): Reduktion des Hämiglobins ohne Zusatz von Substrat.
„ 2 (○○○): Reduktion des Hämiglobins nach Zusatz von Glucose.
„ 3 (⊙⊙⊙): Reduktion des Hämiglobins nach Zusatz von Glucose + Nilblau.
„ 4 (□□□): Reduktion des Hämiglobins nach Zusatz von Lactat.
„ 5 (⊡⊡⊡): Reduktion des Hämiglobins nach Zusatz von Lactat + Nilblau.

reihe über die Reduktion des Hämiglobins in Hundeerythrocyten wiedergegeben. Durch ein aus den Erythrocyten nicht auswaschbares Substrat (Phosphatester) findet schon ohne Zusatz von Glucose oder Lactat eine

langsame Reduktion statt. Zusatz von Glucose beschleunigt die Reduktion. In Gegenwart von Glucose bewirkt Nilblau eine weitere Steigerung der Reduktionsgeschwindigkeit um 100—200%. Die Abnahme der Hämiglobinkonzentration ist hier der Zeit proportional.

Die Reduktion durch Lactat in der Konzentration von 0,02% verläuft etwa ebenso schnell wie die durch Glucose. Der Ablauf der Reduktion ist in diesen Versuchen der Zeit nicht proportional, die Kurven verlaufen gekrümmt. Ursache dieses Reaktionsablaufs ist nicht eine Abhängigkeit der Reduktionsgeschwindigkeit von der Hämiglobinkonzentration, sondern die Bildung von Brenztraubensäure, die die Milchsäuredehydrierung hemmt. Die Anfangsgeschwindigkeiten in Versuchen mit verschiedener Hämiglobinkonzentration sind jedenfalls unter sonst gleichen Bedingungen oberhalb einer bestimmten Konzentration gleich (Kiese[9]).

Die aus solchen Messungen gewonnenen Anfangsgeschwindigkeiten der Reduktion sind in der Tabelle 1 zusammengestellt. Die dort wiedergegebenen Werte sind Mittelwerte aus jeweils mehreren Versuchen, die

Tabelle 1. Geschwindigkeit der Reduktion des Hämiglobins in den Erythrocyten verschiedener Tiere.

Reduktionsgeschwindigkeit gemessen in γ Hämiglobin, das von 1 Million Erythrocyten in 1 Stunde reduziert wird.

Tierart	Ohne Zusatz von Substrat	Substrat			
		0,25% Glucose	0,25% Glucose + 0,0014% Nilblau	0,02% Lactat	0,02% Lactat + 0,0014% Nilblau
Kaninchen	2,4	9,0	45	16	24
Meerschweinchen	2,2	6,5	30	9	18
Ratte	1,5	3,5	20	4,4	8
Hund	2,0	3,8	10	4,0	9
Mensch	0,5	2,7	28	2,4	2,7
Katze	0,5	2,3	6	3,0	3,2

höchstens $\pm$ 15%, meistens aber weniger vom Mittelwert abweichen. Lediglich bei den Versuchen ohne Substrat kommen größere Schwankungen vor, da der Gehalt der Erythrocyten an Phosphatestern wohl sehr schwankt. Es wurden nur Versuche mit Erythrocyten ausgewertet, in denen die Reduktion des Hämiglobins innerhalb von 6 Stunden nach der Entnahme aus dem Tier bestimmt wurde. Das Reduktionsvermögen von Erythrocyten ist oft nach 24stündigem Aufenthalt im Eisschrank schon vermindert.

Die Ergebnisse der kolorimetrischen und der manometrischen Messungen stimmten in allen Versuchen gut überein. Für die Geschwindigkeit der Reduktion mit Lactat ergab die manometrische Methode ein wenig höhere Werte, wohl durch die Erfassung der Anfangsgeschwindigkeit in einem kürzeren Zeitintervall als bei dem kolorimetrischen Verfahren.

Die Ergebnisse zeigen zunächst, daß die Reduktion des Hämiglobins ohne Zusatz von Glucose oder Lactat von Tierart zu Tierart stark schwankt.

Etwa in der gleichen Folge ordnen sich die verschiedenen Tiere mit der Reduktionsgeschwindigkeit in Gegenwart von Glucose. Eine ähnliche Reihenfolge ergibt sich in den Geschwindigkeiten der Reduktion mit Lactat. Doch bestehen gewisse quantitative Abweichungen. Im allgemeinen verläuft schon bei der angewandten Lactatkonzentration die Reduktion mit Lactat etwas schneller als die mit Glucose. Eine Ausnahme bildet der Mensch. Dabei ist zu berücksichtigen, daß in der Reduktion durch Lactat die durch die aus dem Erythrocyten nicht auswaschbaren Substrate (Phosphatester) enthalten war, die nach allen unseren Erfahrungen nicht eine Reduktion durch Lactat ist. Nach ihrem Abzug nähert sich bei den von uns gewählten Konzentrationen die Geschwindigkeit der Reduktion durch Lactat der durch Glucose. Quantitativ sind die Verhältnisse der Reduktionsgeschwindigkeiten in Tabelle 2 wiedergegeben.

Tabelle 2. Verhältnis der Geschwindigkeiten der Reduktion von Hämiglobin durch Glucose und Lactat in den Erythrocyten verschiedener Tiere.

Reduktionsgeschwindigkeit in γ Hämiglobin pro 1 Million Erythrocyten in 1 Stunde.

Tierart	Reduktionsgeschwindigkeit		
	A mit 0,25% Glucose	B mit 0,02% Lactat *	$\frac{B}{A}$
Kaninchen	9,0	13,6	1,22
Meerschweinchen	6,5	6,8	1,05
Hund	3,8	2,9	0,76
Ratte	3,5	2,0	0,57
Mensch	2,7	1,9	0,68
Katze	2,3	2,5	1,09

* Nach Abzug der Reduktion, die durch nicht auswaschbares Substrat im Erythrocyten bedingt wird.

Es ergeben sich also Schwankungen in dem Verhältnis zwischen 0,6—1,2. Die geringe Wirksamkeit des Lactats im menschlichen Erythrocyten erscheint bemerkenswert. Ein Versuch, in dem ein Vergleich der Wirkung von Lactat und Glucose im Menschenerythrocyten durchgeführt wurde, ist in Abb. 2 wiedergegeben. Durch Erhöhung der Lactatkonzentration auf das Zehnfache wurden Reduktionsgeschwindigkeiten erzielt, die die durch Glucose übertrafen. Aber auch die maximale Reduktionsgeschwindigkeit mit Lactat war im Menschenerythrocyten im Vergleich mit der in anderen Erythrocyten klein.

Von Interesse ist die katalytische Wirkung des Nilblaus. Sie zeigt ebenfalls erhebliche Unterschiede sowohl in ihrem absoluten Wert als auch im Verhältnis zur Reduktionsgeschwindigkeit durch Glucose. In Tabelle 3 sind diese Beziehungen in Zahlen wiedergegeben. Der absolute Wert der Steigerung der Reduktionsgeschwindigkeit durch Nilblau wurde aus den Werten der Tabelle 1 errechnet durch Subtraktion der Geschwindig-

keit der Reduktion durch Glucose von der durch Glucose + Nilblau erzielten. Die Kaninchenerythrocyten erwiesen sich auch hier wieder allen anderen in der absoluten Größe der Nilblauwirkung überlegen. Auffallend ist die starke Nilblauwirkung in den Menschenerythrocyten, die der in Meerschweinchenerythrocyten gleicht und der in Kaninchenerythrocyten nahekommt. Bezogen auf die unbeeinflußte Reduktion durch Glucose übertrifft die Nilblauwirkung in den Menschenerythrocyten mit einer Steigerung der Geschwindigkeit um das Zehnfache weit die Nilblauwirkung in anderen Erythrocyten. Die Nilblauwirkung im Menschenerythrocyten ist in Abb. 2 ebenfalls veranschaulicht.

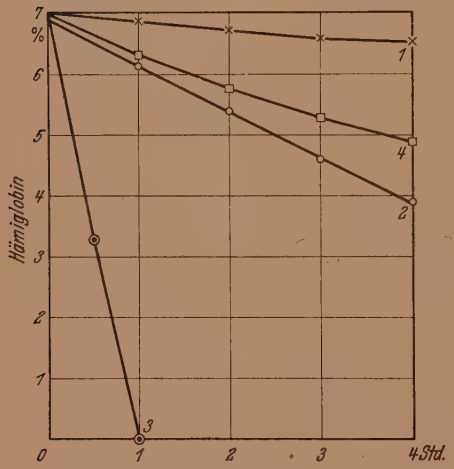


Abb. 2. Reduktion von Hämiglobin in Menschenerythrocyten. Messung der Reduktionsgeschwindigkeit durch kolorimetrische Hämiglobinbestimmung. Gesamthämoglobin 7,1 %, Glucose 0,25 %, Lactat 0,02 %, Nilblau 0,0014 %, Gasraum CO, Temp. 37°.

Kurve 1 (× × ×): Reduktion des Hämiglobins ohne Zusatz von Substrat.
„ 2 (○○○): Reduktion des Hämiglobins nach Zusatz von Glucose.
„ 3 (⊙⊙⊙): Reduktion des Hämiglobins nach Zusatz von Glucose + Nilblau.
„ 4 (□□□): Reduktion des Hämiglobins nach Zusatz von Lactat.

Tabelle 3. Die katalytische Wirkung von Nilblau auf die Reduktion des Hämiglobins in den Erythrocyten verschiedener Tiere durch Glucose.

Tierart	Durch Nilblau bewirkte Zunahme der Reduktionsgeschwindigkeit in γ Hämiglobin pro 1 Million Erythrocyten pro Stunde	Verhältnis der durch Nilblau bewirkten Steigerung der Reduktionsgeschwindigkeit (A) zu der durch Glucose allein erzielten (B) $\frac{A}{B}$
Kaninchen	36,0	4,0
Meerschweinchen	23,5	3,8
Hund	6,2	1,6
Ratte	16,5	4,7
Mensch	25,3	9,4
Katze	3,7	1,6

Die Nilblauwirkung in Gegenwart von Lactat ist weit weniger interessant, da sie nicht auf einer Beschleunigung der Reaktion zwischen dem die Milchsäure dehydrierenden Fermentsystem und Hämiglobin beruht, sondern auf einer Beschleunigung der Reduktion des Hämiglobins durch

die aus dem Erythrocyten nicht auswaschbaren Phosphatester auf dem Wege über Zwischenferment und Hämiglobinreduktase (Kiese[9]). Am stärksten ist die Wirkung auch in den Zellen, die die höchste Reduktionsgeschwindigkeit ohne Zusatz von Glucose oder Lactat aufweisen.

Besprechung.

Die Messungen weisen recht erhebliche Unterschiede in der Reduktion des Hämiglobins in den Erythrocyten verschiedener Tiere nach. Um die hier bestimmten Reduktionsgeschwindigkeiten mit den Ergebnissen der Untersuchungen über die Hämiglobinreduktion in vivo vergleichen zu können, wurde aus diesen eine Reduktionsgeschwindigkeit in unserem Maßstab errechnet. Bei der Errechnung dieser Geschwindigkeiten mußte das Verfahren der Untersuchung berücksichtigt werden. Außer einigen jüngeren Untersuchungen von Cox und Wendel[11] und einigen Messungen zusammen mit Zürcher[12], in denen bei Hunden die Hämiglobinreduktion nach intravenöser Injektion von Nitrit verfolgt wurde, lagen uns die früheren Untersuchungen aus unserem Institut vor, in denen den Versuchstieren hämiglobinhaltige Erythrocyten infundiert wurden. Da die Hämiglobinreduktion nur in den infundierten hämiglobinhaltigen Erythrocyten ablief, mußte die Reduktionsgeschwindigkeit auf sie bezogen werden. Ihre Konzentration wurde aus dem anfänglichen Hämiglobingehalt nach der Injektion der hämiglobinhaltigen Erythrocyten ermittelt. Dabei wurde berücksichtigt, daß wahrscheinlich ebenso wie bei unseren Versuchen in den Erythrocyten von Kaninchen und Meerschweinchen nicht alles Hämoglobin zu Hämiglobin oxydiert war.

Zum Vergleich mit diesen Reduktionsgeschwindigkeiten wurden für die Reduktion in vitro Geschwindigkeiten durch Addition der mit Glucose und mit Lactat beobachteten errechnet. Diese Werte sind insofern brauchbar, als unter den gewählten Bedingungen eine Addition der Reduktion durch Glucose und Lactat erfolgt. Die so gewonnenen Werte sind bei Katze und Hund etwas höher als die in vivo beobachteten, bei den anderen drei Tieren aber geringer, Tabelle 4. Die Abweichung ist in diesen Fällen wohl größer als die bei den Unsicherheiten der Geschwindigkeitsberechnung möglichen Fehler. Wenn die Tiere nicht unter den Versuchsbedingungen (Narkose, Blutentnahme, Infusion von Erythrocyten) einen besonders hohen Milchsäuregehalt im Blute hatten, muß man annehmen, daß noch andere Faktoren in vivo eine Rolle bei der Hämiglobinreduktion spielen, die bisher in vitro nicht erfaßt wurden. Ob es sich dabei um reduzierende oder die Reduktion beschleunigende Stoffe aus der Leber handelt, wie wir sie im Leberextrakt nachweisen konnten, oder Stoffe wie Vitamin K, deren starke katalytische Wirkung wir nachwiesen

[11] Cox, W. W., u. W. B. Wendel: J. biol. Chem. (Am.) 143, 331 (1942). —
[12] Kiese, M. u. H. Zürcher: Unveröffentlichte Untersuchungen. Berlin 1943.

Tabelle 4. Vergleich der Hämiglobinreduktion in vitro und in vivo in den Erythrocyten verschiedener Tiere.
Reduktionsgeschwindigkeit gemessen in γ Hämiglobin pro 1 Million Erythrocyten pro Stunde.

Tierart	Geschwindigkeit der Reduktion in vitro durch 0,25% Glucose + 0,02% Lactat	Reduktionsgeschwindigkeit in vivo *
Kaninchen	22,6	36
Meerschweinchen	13,3	28
Ratte	5,5	10
Hund	6,7	5
Katze	4,8	3,6

* Errechnet aus Messung von Möbus[1] und Jung[2] (Katze) Gelinski[3] (Kaninchen und Ratte), Kunz[4] (Meerschweinchen) und Kiese[5] (Hund).

Kiese[9]), muß die weitere Untersuchung zeigen. Eine Frhöhung der Lactatkonzentration gegenüber der von uns in vitro angewandten Konzentration von 0,02 % vermag gerade bei Kaninchen und Meerschweinchen die Reduktionsgeschwindigkeit noch erheblich zu steigern, da die Erythrocyten dieser Tiere sehr viel Milchsäuredehydrase enthalten und das Ferment bei der genannten Konzentration erst zu einem kleinen Teil mit Substrat gesättigt ist.

Beim Vergleich der Reduktionsgeschwindigkeiten in vitro und in vivo ist noch zu berücksichtigen, daß unsere Messungen in vitro die wahre Reduktionsgeschwindigkeit maßen, während die in vivo beobachtete Reduktion eine Resultante aus Reduktion und Oxydation ist. Für die Oxydation des Hämoglobins durch Sauerstoff in vivo ist schwierig, eine bestimmte Geschwindigkeit anzugeben, da sie sehr stark von der Konzentration an freiem Hämoglobin und somit mittelbar wie auch unmittelbar vom Sauerstoffdruck abhängt (Neill und Hastings[13] und Brooks[14]). Im Venenblut verläuft sie schneller, aber entsprechend der wechselnden Sauerstoffsättigung ungleichmäßig.

Abgesehen von den erörterten Abweichungen zeigen die Reduktionsversuche doch, daß mit Glucose und Lactat die wesentlichen reduzierenden Substrate erfaßt sind. Bei der Bewertung des auf Glucose und Lactat entfallenden Anteils der Hämiglobinreduktion ist folgendes zu beachten: In der Tabelle 1 sind die Geschwindigkeiten der Reduktion durch Glucose und Lactat so wiedergegeben, wie sie nach Zusatz der beiden Substrate gemessen wurden. In beiden Geschwindigkeiten ist jedoch die ohne Zusatz von Substrat enthalten. Wir dürfen annehmen, daß es sich dabei um Reduktion durch Phosphatester handelt (Kiese[9]). Dann ist es richtig,

[13] Neill, J. M., u. A. B. Hastings: J. biol. Chem. (Am.) **63**, 479 (1925). — [14] Brooks, J.: Proc. roy. Soc. Lond., Ser. B: Biol. Sci. **109**, 35 (1932); **118**, 560 (1935).

sie mit der Reduktion durch Glucose zusammenzunehmen. Aber zur Bestimmung der durch Lactat selbst erzielten Reduktion mußte sie von der nach Zusatz von Lactat gemessenen abgezogen werden. Diese ausschließlich dem Lactat zukommende Reduktion ist unter unseren Versuchsbedingungen nur beim Kaninchen größer als die durch Glucose erreichte, bei mehreren anderen Tieren aber kleiner.

Das zwischen den verschiedenen Tieren stark wechselnde Verhältnis der Geschwindigkeit der Reduktion durch Lactat und Glucose einerseits und die noch mehr schwankende katalytische Wirkung des Nilblaus andererseits sind wohl am einfachsten durch die an anderer Stelle [9] ausführlicher dargelegte Beobachtung verständlich, daß die Reduktion des Hämiglobins im Erythrocyten durch Glucose nicht ausschließlich den Weg über Milchsäure nimmt, sondern daß daneben mindestens noch ein anderer Weg besteht, über die Dehydrierung von Hexosemonophosphat. Gerade in den Erythrocyten des Menschen scheint dieser Weg im Vergleich mit der Reduktion durch Milchsäure von größerer Bedeutung zu sein als in anderen Erythrocyten.

Zusammenfassung.

Die Geschwindigkeit der Reduktion des Hämiglobins in den Erythrocyten des Kaninchens, Meerschweinchens, der Ratte, des Hundes, Menschen und der Katze wurden gemessen bei Anwendung von Glucose und Lactat als Substrat. Die Reduktionsgeschwindigkeit war in den einzelnen Erythrocytenarten verschieden und ordnete sich etwa in der genannten Reihenfolge. Lactat reduzierte in der angewandten Konzentration von 0,02 % in den meisten Erythrocyten etwa gleich schnell wie Glucose in einer Konzentration von 0,25 %. Lediglich im Kaninchenerythrocyten reduzierte Lactat in der genannten Konzentration schneller. Im übrigen war das Verhältnis der Reduktion durch Lactat und Glucose verschieden.

Die katalytische Wirkung reversibel oxydierbarer Farbstoffe war in den Erythrocyten verschiedener Tiere sehr ungleich und zeigte keine Beziehung zur Geschwindigkeit der Reduktion durch Glucose. Beim Menschen war die Wirkung relativ am größten.

Zum Vergleich der Reduktionsgeschwindigkeit in vitro und in vivo wurde die durch Glucose und Lactat erzielte Reduktionsgeschwindigkeit addiert und der aus Versuchen in vivo errechneten gegenübergestellt. Während bei Ratte, Hund und Katze die Reduktionsgeschwindigkeit in vitro etwa der in vivo entsprach, war diese bei Meerschweinchen- und Kaninchenerythrocyten in vivo erheblich größer als in vitro.

Zur Charakterisierung und Wertbestimmung langsam infundierter oder eingeatmeter Gifte.

Von

Gerhard Böttger, Berlin-Spandau.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 17. Juli 1943.)

I. Einleitung.

Grundlegend für die quantitativen Prüfmethoden der modernen Toxikologie war die Erkenntnis, daß die innerhalb einer Tierrasse, ja sogar innerhalb einer sogenannten reinen Linie individuell schwankenden Giftempfindlichkeiten eine einigermaßen gesetzmäßige Verteilung aufweisen derart, daß die zu den Individuen gehörigen kleinsten letalen Dosen D_l* (pro Gewichtseinheit) oder auch deren Logarithmen x annähernd nach Art der bekannten Gaußschen Fehlerkurve regelmäßig um ihr arithmetisches Mittel verteilt sind. Dieses Mittel ist mit dem am häufigsten vorkommenden D_l- bzw. x-Wert identisch und repräsentiert die sogenannte $D_l\,50$ bzw. den Logarithmus der $D_l\,50$, d. h. derjenigen Dosis, die an einer genügend großen Tierzahl geprüft 50 % der Individuen tötet [de Lind van Wijngaarden (1), Trevan (2), Prigge und Schäfer (3), van der Waerden (4) u. a.]. Durch Integration dieser Verteilungsfunktion erhält man die Beziehung zwischen Dosis D und Mortalitätsprozentsatz p einer Tiergruppe in Form des sogenannten Wahrscheinlichkeitsintegrals. Seine Transformation nach Hazen (5) gestattet die Berechnung von ξ, wenn man zu mindestens zwei verschiedenen Dosen die zugehörigen p-Werte empirisch ermittelt hat [Gaddum (6), Prigge und Schäfer (3), Fisher (7), van der Waerden (4)]. Oder man bestimmt ξ nach der Methode von Behrens und Kärber (8) als Mittelwert aller von $p = 0$ bis $p = 100$ vorkommenden D_l- bzw. x-Werte.

Nun kann man ξ auch ohne Integration der Verteilungsfunktion unmittelbar als arithmetisches Mittel aller an einer Tiergruppe bestimmten D_l- bzw. x-Werte erhalten, doch ist die hierfür erforderliche direkte Ermittlung der D_l-Werte nur bei schnell wirkenden Giften möglich. In diesem Falle läßt sich D_l angenähert als diejenige Giftmenge betrachten, die bei langsamer Infusion in die Blutbahn dem Tiere bis zum Tode zugeführt wird [Hatcher und Brody (9), de Lind van Wijngaarden (1) u. a.]. Dieses Verfahren hat besonders für die biologische Auswertung der Digitalisglykoside Bedeutung gewonnen, ist aber grundsätzlich auch

* D_l als Abkürzung für D. l. m.

auf die Wirksamkeits- und Konzentrationsbestimmung von eingeatmeten Giften anwendbar, denn auch bei der Einatmung erfolgt die Zufuhr des Giftes nicht plötzlich, sondern erst im Verlaufe einer bestimmten Zeit.

II. Die Zeit-Menge-Beziehung.

Es liegt auf der Hand, daß die mit der Zufuhrgeschwindigkeit c durch Infusion oder Einatmung dem Tiere bis zum Tode zugeführte Giftmenge D_{lc} die für zeitlose Injektion gültige D_l um so mehr übersteigen muß, je kürzer die Infusionszeit und je kleiner die spezifische Wirkungsgeschwindigkeit des Giftes ist. (Hierbei sei unter Wirkungsgeschwindigkeit ganz allgemein die Geschwindigkeit verstanden, mit der der Tod oder die sonst betrachtete biologische Reaktion nach der Injektion einer bestimmten Dosis auftritt). Es existiert also für jedes Gift eine charakteristische Zeit-Menge-Beziehung, die besonders am Beispiel der Digitalisglykoside von zahlreichen Autoren studiert worden ist [Straub (10), Hauptstein (11), Lendle (12), Fromherz und Welsch (13), Bauer und Fromherz (14), Haferkorn und Lendle (15), Mehnert (16), Hildebrandt (17) u. a.]. In Anbetracht der Wichtigkeit der Zeit-Menge-Beziehung für die Charakterisierung eines Giftes sowie für die kritische Durchführung seiner biologischen Wertbestimmung erscheint es zweckmäßig, nach einer knappen formelmäßigen Darstellung dieser Beziehung zu suchen. Geppert (18) fand bereits, daß die von Hildebrandt (17) für g-Strophanthin und Digitoxin ermittelten Infusionszeiten mit ihren zugehörigen Infusionsgeschwindigkeiten angenähert der Funktion einer unsymmetrischen Hyperbel genügen von der Form

$$\overline{T}_{lc} = \frac{b}{c^a} \quad \text{oder} \quad \overline{T}_{lc} = \frac{b \cdot c^\delta}{c}, \tag{1}$$

wenn hierin $\overline{T}_{lc}$ die bis zum Tode des Tieres benötigte, in Minuten ausgedrückte mittlere Infusionszeit bei der Infusionsgeschwindigkeit c (in mg pro kg und Stunde), $a \leqq 1$ sowie b zwei Konstanten und $\delta = 1 - a$ bedeuten. Nach Geppert (18) „entspricht b der Größenordnung der letalen Dosen", während sich c als „Maß für die Bindungsgeschwindigkeit des Giftes deuten läßt". Es wurde von Geppert (18) berechnet für g-Strophanthin Merck $\delta = 0{,}310$ und $b = 17{,}30$, für Digitoxin Merck $\delta = 0{,}376$ und $b = 47{,}06$*.

Die Formel von Geppert (18) genügt angenähert den von Hildebrandt (17) ermittelten Werten (vgl. Tabellen 1 und 3). Bei ihrer allgemeineren Anwendung wirkt jedoch störend, daß sie die mittlere bis

* In einer neuen Arbeit [Naunyn-Schmiedebergs Arch. **200**, 627 (1943)], die mir erst nach Abfassung der vorliegenden Abhandlung bekannt wurde, kommt Geppert zu Ergebnissen, die sich mit meinen vielfach berühren. Da Gepperts Ableitungen rein theoretischer Natur sind, glaube ich, werden sie durch meine experimentell begründeten Ausführungen vorteilhaft ergänzt, besonders da diese einen anderen Ausgangspunkt hatten und aus der Betrachtung gasförmiger Gewerbegifte entstanden.

zum Tode zugeführte Dosis $\overline{D}_{lc} = c \cdot \overline{T}_{lc}$ mit sinkender Infusionsgeschwindigkeit c beliebig klein werden läßt. Dies ist nach dem oben Gesagten zweifellos unrichtig, ganz besonders natürlich dann, wenn bei langsamer Zufuhr die entgiftende und ausscheidende Tätigkeit des Körpers nur noch einen Teil der verabreichten Dosis zur Wirkung gelangen läßt. Ferner wäre es wünschenswert, eine Formel zu besitzen, deren Konstanten eine noch etwas schärfere und vor allem anschaulichere Bedeutung besäßen als die Konstanten b und δ. In diesem Sinne bedeuten vielleicht folgende Überlegungen einen Fortschritt.

III. Die Zeit-Menge-Formel.

Allgemein ist die innerhalb der Zeit t dem Tier zugeführte Dosis D eine Funktion von t und der Zufuhrgeschwindigkeit c. Es ist also $D = f(c, t)$. Im einfachsten Falle ist sowohl bei Infusion als auch innerhalb bestimmter Grenzen bei Einatmung [Flury und Zernik (19)]

$$D = c \cdot t,$$

worin c im Falle der Infusion die konstante Infusionsgeschwindigkeit (infundierte Menge pro Gewichts- und Zeiteinheit), im Falle der Einatmung das Produkt aus der Gaskonzentration und einem Proportionalitätsfaktor bedeutet. Dieser Ansatz macht zur Voraussetzung, daß sich die Giftresistenz des Tieres während der Zeit t nicht ändert und die vom Organismus innerhalb dieser Zeit entgiftete oder ausgeschiedene Menge gegenüber D vernachlässigt werden kann. Diese Bedingungen sind um so besser erfüllt, je kleiner t und je größer c ist.

Bei gegebenem c sei die kleinste Letaldosis D_l nach der Zeit t_l dem Tiere zugeführt, es gelte also

$$D_l = c \cdot t_l. \qquad (2)$$

Unterbricht man nun bei t_l die Zufuhr, so wird das Tier nach einer gewissen zusätzlichen Zeit τ eingehen. Setzt man aber die Zufuhr fort, so erfolgt der Tod bereits nach der zusätzlichen Zeit $\vartheta \leqq \tau$. Die gesamte Reaktionszeit T_{lc} bei der Zufuhrgeschwindigkeit c beträgt dann

$$T_{lc} = t_l + \vartheta.$$

Die bis zum Tode zugeführte Dosis $D_{lc} = c \cdot T_{lc}$ ist demnach um $c \cdot \vartheta$ größer als die zur Auslösung des Todes überhaupt erforderliche Minimaldosis $D_l = c \cdot t_l$. Um D_{lc} und damit $c \cdot \vartheta$ berechnen zu können, muß man zunächst T_{lc} bestimmen.

Nun ist nach Ipsen (20) der Zusammenhang zwischen der zeitlos zugeführten Dosis D und der zwischen Injektion und Tod verstreichenden Reaktionszeit T_l

$$T_l = \frac{\varkappa \cdot t_m}{\left(\frac{D}{D_l} - 1\right)^{\alpha}} + t_m. \qquad (3)$$

Hierin bedeuten t_m die minimale Reaktionszeit, die selbst bei Zufuhr größter Dosen nicht mehr unterschritten wird, ferner α und $\varkappa$ zwei für die Substanz und das gewählte Tiermaterial charakteristische Konstanten. Diese von Ipsen (20) unter Verbesserung älterer Formeln [Glenny (21)] besonders an Bakterientoxinen entwickelte Formel läßt sich für schnell wirkende Gifte vereinfachen, wenn t_m gegenüber der Reaktionszeit für kleinere und mittlere Dosen vernachlässigt werden kann. Es ist dann, allerdings nur wie eben erwähnt für nicht zu großes $D \geqq D_l$,

$$T_l = \frac{k}{\left(\frac{D}{D_l} - 1\right)^{\alpha}}, \tag{4}$$

wenn $k = \varkappa \cdot t_m$ gesetzt wird.

(3) und (4) gelten insofern nur angenähert, als nach ihnen für $D = D_l$ die Reaktionszeit T_l unendlich groß wird. In Wirklichkeit strebt T_l einem, manchmal sehr niedrigen Grenzwerte zu, beispielsweise bei Blausäure einem Werte von der Größenordnung weniger Minuten.

Die Bedeutung der Konstanten k und α in (4) ist, wie man leicht erkennt, folgende: k repräsentiert die Reaktionszeit T_l nach einmaliger zeitloser Verabreichung der doppelten kleinsten Letaldosis D_l. Die Konstante k stellt also einen guten Maßstab für die Wirkungsgeschwindigkeit eines Giftes dar. α mißt dagegen die Zunahme der Wirkungsgeschwindigkeit bei ansteigender Dosis und ist mathematisch definiert als negativer Tangens des Neigungswinkels der in doppelt logarithmischen Koordinaten gerade verlaufenden Beziehung (4).

Nach (4) ist die mittlere Reaktionsgeschwindigkeit, ausgedrückt durch den pro Zeiteinheit ablaufenden Anteil der Gesamtreaktion,

$$\frac{1}{T_l} = \frac{\left(\frac{D}{D_l} - 1\right)^{\alpha}}{k}.$$

Nimmt man nun die Reaktionsgeschwindigkeit als annähernd gleichförmig an, d. h. setzt sie der mittleren gleich und führt man für den Fall der langsamen Zufuhr $D = c \cdot t$ in den obigen Ausdruck ein, so ist mit D auch $1/T_l$ eine Funktion der Zeit geworden.

$$\frac{1}{T_l} = \frac{\left(\frac{c \cdot t}{D_l} - 1\right)^{\alpha}}{k}.$$

Der nach der Zeit t abgelaufene Anteil A_t der Gesamtreaktion ist dann

$$A_t = \frac{1}{k} \int_0^t \left(\frac{c \cdot t}{D_l} - 1\right)^{\alpha} \cdot dt.$$

Ist mit dem Eintritt des Todes die Reaktion beendet, also $A_t = 1$, so ist die obere Grenze t des Integrals gleich der gesuchten Reaktionszeit T_{lc}.

Es ist dann also

$$1 = \frac{1}{k} \int_0^{T_{lc}} \left(\frac{c \cdot t}{D_l} - 1 \right)^{\alpha} \cdot dt.$$

Daraus ergibt sich, wenn zur Abkürzung gesetzt wird

$$\lambda = (k\alpha + k)^{\frac{1}{\alpha+1}}, \tag{5}$$

$$c \cdot T_{lc} = \lambda \cdot D_l^{\frac{\alpha}{\alpha+1}} \cdot c^{\frac{1}{\alpha+1}} + D_l \tag{6}$$

und da $c \cdot T_{lc} = D_{lc}$

$$D_{lc} = \lambda \cdot D_l^{\frac{\alpha}{\alpha+1}} \cdot c^{\frac{1}{\alpha+1}} + D_l. \tag{6a}$$

Nach der so gewonnenen Zeit-Menge-Formel (6a) ist die mit der Geschwindigkeit c zugeführte Letaldosis D_{lc} um $\lambda \cdot D_l^{\frac{\alpha}{\alpha+1}} \cdot c^{\frac{1}{\alpha+1}}$ größer als die Letaldosis D_l bei zeitloser Verabreichung. Dieser Betrag ist also außer von D_l namentlich von c abhängig in dem Sinne, daß er mit c stetig steigt und fällt und für $c = 0$ gleichfalls Null wird. Ferner hängt er von den Konstanten α und k insofern ab, als er um so kleiner wird, je größer α und je kleiner k, d. h. je größer die Wirkungsgeschwindigkeit der Substanz ist. Der Grundgedanke der Methode der langsamen Zufuhr, D_l durch D_{lc} zu messen, läßt sich also nur verwirklichen, wenn c unterhalb einer bestimmten Grenze bleibt, die außer von der Größe des als zulässig angesehenen Fehlers besonders von α und k abhängt. (Freilich ist diese Begrenzung von c nur dann möglich, wenn die Entgiftungswirkung des Organismus so gering ist, daß (2) auch für das gewählte kleine c noch Gültigkeit besitzt.) Liegt c dagegen oberhalb der erwähnten Grenze und kann daher in (6a) $\lambda \cdot D_l^{\frac{\alpha}{\alpha+1}} \cdot c^{\frac{1}{\alpha+1}}$ gegenüber D_l nicht vernachlässigt werden, so ist D_{lc} mit D_l nicht nur nicht identisch, sondern auch nicht einmal proportional. In diesem Falle wird D_{lc} erst auf Grund der Kenntnis der Zeit-Menge-Beziehung für die Bestimmung von D_l oder c auswertbar. Ohne Berücksichtigung der Zeit-Menge-Beziehung sind höchstens vergleichende Wertbestimmungen verschiedener Lösungen ein und derselben Substanz möglich derart, daß durch entsprechendes, praktisch allerdings recht umständliches Ausprobieren von c die Zufuhrzeit T_{lc} bei allen Versuchen konstant gehalten wird. Dann verhalten sich die gesuchten Letaldosen der Lösungen wie die angewandten Zufuhrgeschwindigkeiten c.

Da es heute noch völlig unmöglich ist, komplexe biologische Vorgänge mit der Exaktheit physikalischer oder chemischer Gesetze mathematisch darzustellen, kann auch die Zeit-Menge-Formel nur Näherungswerte liefern. Zu ihrer richtigen Einschätzung sei nochmals daran erinnert, daß ihre Ableitung von folgenden Voraussetzungen ausging: Der Richtigkeit von (2)

und (4), sowie den Annahmen, daß die Reaktionsgeschwindigkeit $1/T_l$ als gleichförmig angesehen werden kann und für $c \cdot t \leqq D_l$ Null ist. Wie schon erwähnt, wird (4) für sehr kleine und ebenso sehr große Dosen fehlerhaft, dagegen sind die übrigen Voraussetzungen um so besser erfüllt, je größer die Dosis bzw. die Zufuhrgeschwindigkeit c ist. Die Zeit-Menge-Formel wird demnach für mittelgroßes c die besten Werte liefern, für kleines c aber häufig auch noch brauchbar bleiben, weil der in diesem Falle auftretende Fehler sich lediglich auf den Ausdruck $\lambda \cdot D_l^{\frac{\alpha}{\alpha+1}} \cdot c^{\frac{1}{\alpha+1}}$ bezieht, dieser aber wegen seiner Kleinheit für geringes c den Wert von D_{lc} nur relativ wenig beeinflußt.

Vielleicht ist es möglich, mit Hilfe der von Gehlen (22) entwickelten, allerdings komplizierteren Theorie die Zeit-Menge-Beziehung noch besser zu erfassen. Eine praktische Prüfung dieser Theorie ist meines Wissens bisher noch nicht erfolgt.

IV. Praktische Prüfung der Zeit-Menge-Formel.

Zur praktischen Anwendung und Prüfung von (6) und (6a) sowie (4) ist es notwendig, darin die nicht unmittelbar bestimmbare individuelle Letaldosis D_l durch $D_l\,50$ zu ersetzen. Es erhalten dann auch T_{lc} und T_l die Bedeutung der $T_{lc}\,50$ bzw. $T_l\,50$, d. h. derjenigen Zeit, die vom (gedacht gleichzeitigen) Beginn der langsamen Zufuhr bzw. vom Moment der Injektion an bis zum Tode von 50% der Tiere verstreicht, ebenso D_{lc} die Bedeutung der $D_{lc}\,50$. $D_{lc}\,50$, $T_{lc}\,50$ und $T_l\,50$ stellen ebenso wie $D_l\,50$ (s. unter I.) die innerhalb des betrachteten Tierkollektivs am häufigsten vorkommenden D_{lc}-, T_{lc}-, T_l- bzw. D_l-Werte dar; sie entsprechen angenähert dem Mittel dieser Individualwerte. Bringt man dann in (6a) $D_l\,50$ auf die linke Seite der Gleichung, so ist

$$D_{lc}\,50 - D_l\,50 = \lambda \cdot D_l\,50^{\frac{\alpha}{\alpha+1}} \cdot c^{\frac{1}{\alpha+1}}. \qquad (6b)$$

Man erkennt aus (6b), daß $D_{lc}\,50 - D_l\,50$ und c in doppelt logarithmischen Koordinaten linear miteinander verbunden sind.

Hat man nun an einem Gifte bei verschiedenen Zufuhrgeschwindigkeiten c die zugehörigen Dosen $D_{lc}\,50$ experimentell bestimmt, hat man ferner nach einem der in Abschnitt I erwähnten Verfahren die $D_l\,50$ gemessen, so gewinnt man die Zeit-Menge-Formel durch Bestimmung von α und λ am besten, indem man $D_{lc}\,50 - D_l\,50$ in Abhängigkeit von c in ein doppelt logarithmisches Koordinatennetz einzeichnet und möglichst dicht an diesen Meßpunkten eine Gerade vorbeiführt. Hierbei ist zu berücksichtigen, daß die zu kleinem c zugehörigen Meßpunkte einen viel höheren Fehler und daher weit geringeres Gewicht besitzen als die Punkte für größeres c. Denn der Meßfehler von $D_{lc}\,50$ wirkt sich auf kleine ($D_{lc}\,50 - D_l\,50$)-Werte besonders ungünstig aus, ferner liefert die Zeit-Menge-Formel, wie schon angedeutet, die kleinsten ($D_{lc}\,50 - D_l\,50$)-Werte nur

ungenau. Je exakter nun die Zeit-Menge-Formel gilt, um so besser durchläuft die Gerade die Meßpunkte, richtiger gesagt, deren Fehlerbereiche.

Der direkt mit Hilfe eines Zentimetermaßes meßbare Tangens des Neigungswinkels der Geraden ist nach (6b) gleich $\frac{1}{\alpha+1}$. Ferner ist für $c = 1$ nach (6b) $D_{lc}\,50 - D_l\,50 = \lambda \cdot D_l\,50^{\frac{\alpha}{\alpha+1}}$. Man liest diesen Wert ab, dividiert durch $D_l\,50^{\frac{\alpha}{\alpha+1}}$ und erhält so λ. Liegt $c = 1$ außerhalb der Grenzen der Abszissenachse, so kann man natürlich auch jeden anderen $(D_{lc}\,50 - D_l\,50)$ Wert verwenden, muß dann aber diesen zusätzlich durch $c^{\frac{1}{\alpha+1}}$ dividieren. Hiermit sind die Konstanten α und λ der Zeit-Menge-Formel bestimmt. Die die Wirkungsgeschwindigkeit des Giftes charakterisierende Konstante k aus (4) errechnet sich dann leicht nach (5) zu

$$k = \frac{\lambda^{\alpha+1}}{\alpha+1}.$$

Wie im folgenden näher dargestellt, wurden in dieser Art α und λ und damit auch k für die Infusion von Digitoxin und g-Strophanthin berechnet. In derselben Weise wurde ferner die Zeit-Menge-Beziehung für die Einatmung von Blausäure beim Meerschweinchen festgestellt, wobei in diesem Falle als Kriterium der biologischen Wirkung nicht der Tod, sondern das Umsinken der Tiere in die Seitenlage gewählt wurde. Mit Hilfe der so für die drei Substanzen aufgestellten Zeit-Menge-Formeln wurden weiterhin die zu verschiedenen c-Werten zugehörigen D_{lc}-Werte bestimmt und den empirisch ermittelten gegenübergestellt.

Es blieb zu prüfen, ob die so gewonnenen Konstanten α und k tatsächlich mit den Konstanten von (4) identisch sind und somit deren Bedeutung besitzen, ob also mit anderen Worten die Ableitung von (6a) aus (4) richtig ist. Zu diesem Zwecke wurden zwei oder mehrere verschiedene Dosen D entsprechend vielen Tiergruppen praktisch zeitlos injiziert und die Reaktionszeiten $T_l\,50$ beobachtet. Die so ermittelten $T_l\,50$-Werte wurden in ein doppelt logarithmisches Koordinatennetz als Ordinaten gegen den Ausdruck $\frac{D}{D_l\,50} - 1$ als Abszisse eingetragen. Existiert (4) zu Recht, so müssen die $T_l\,50$-Werte angenähert auf einer Geraden liegen. Es ist hierbei zu berücksichtigen, daß die kleineren $\log T_l\,50$-Werte wegen ihrer relativ geringen Streuung von besonderem Gewichte sind.

Will man die Gerade nicht graphisch, sondern durch Ausgleichsrechnung bestimmen, so kann man das Gewicht G der $\log T_l\,50$ Punkte angenähert so berechnen: Der mittlere Fehler ϱ von $\log T_l\,50$ ist nach (4) bei Annahme einer normalen Verteilung von $\log D_l$ um $\log D_l\,50$

$$\varrho = \frac{\sigma}{\sqrt{N}} \cdot \frac{d\,(\log T_l\,50)}{d\,(\log D_l\,50)} = \frac{\alpha \cdot D \cdot \sigma}{(D - D_l\,50) \cdot \sqrt{N}},$$

worin σ die mittlere Abweichung der D_l und N die Tierzahl bedeuten, an der $T_l\,50$ ermittelt wurde. Setzt man nun

$$G = \frac{\sigma^2 \cdot \alpha^2}{\varrho^2},$$

so wird

$$G = \frac{(D - D_l 50)^2 \cdot N}{D^2}.$$

Die Konstanten k und α ergeben sich graphisch ohne Rechnung, k als T_l 50-Wert für $\left(\frac{D}{D_l 50} - 1\right) = 1$, α als negativer Tangens des Neigungswinkels der Geraden. Im folgenden sind die so bestimmten Konstanten k und α der oben erwähnten Substanzen mit den nach (6b) ermittelten verglichen.

1. g-Strophanthin (Merck).

Die von Hildebrandt (17) an g-Strophanthin (Merck) für verschiedene Infusionsgeschwindigkeiten c bestimmten Dosenmittelwerte $\overline{D}_{lc}$

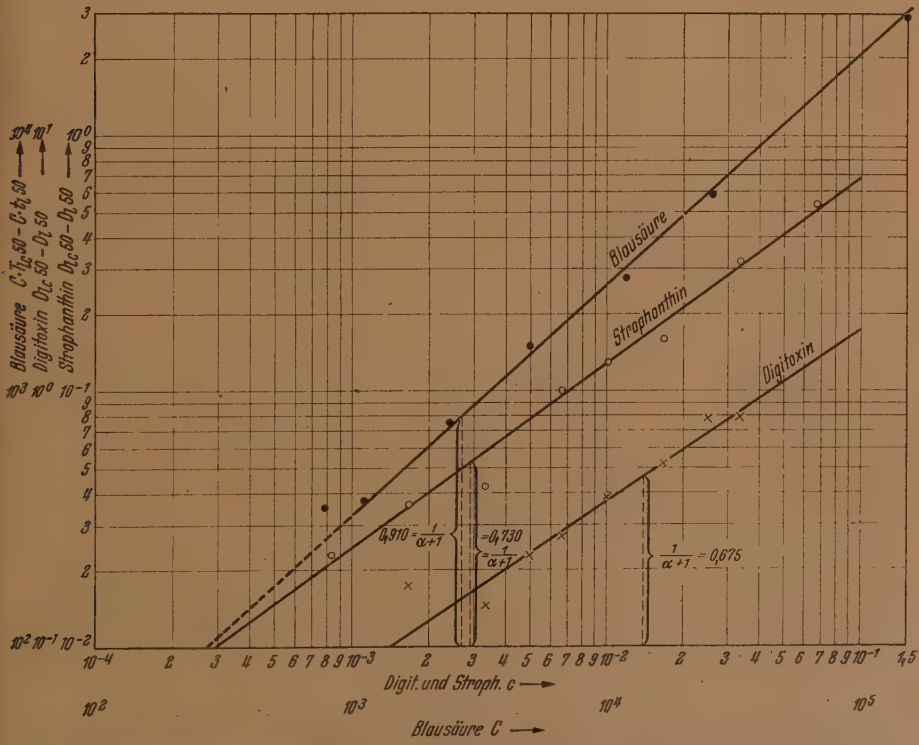


Abb. 1. Zeit-Menge-Beziehung für Digitoxin, Strophanthin und Blausäure. Beide Achsen logarithmisch geteilt, Einheit = 33,5 mm. ● = Blausäure-, o = Strophanthin-, × = Digitoxin-Meßpunkte. Zufuhrgeschwindigkeit c von Digitoxin und Strophanthin in mg/kg · Min., Blausäure-Gaskonzentration C in mg/cbm. Letale Dosen von Digitoxin und Strophanthin bei langsamer Zufuhr ($D_{lc}\,50$) und zeitloser Verabreichung ($D_l\,50$) in mg/kg, $C \cdot t$ Werte von Blausäure bei Einatmung bis zum Eintreten der Reaktion ($C \cdot T_{sc}\,50$) und bis zur Erreichung der wirksamen Dosis ($C \cdot t_s\,50$) in mg · Min/cbm). Weitere Erklärungen siehe Text.

können angenähert als $D_{lc}\,50$ gelten. Wählt man weiterhin als $D_l\,50$ des Hildebrandtschen Tiermaterials den von Hildebrandt (17) bei langsamster Infusion ($c = 0{,}0005$ mg/kg · Minute) beobachteten Minimalwert $\overline{D_{lc}} = 0{,}092$ mg/kg und trägt die so gebildeten ($D_{lc}\,50 - D_l\,50$)-Werte mit ihren zugehörigen c-Werten in ein doppelt logarithmisches Koordinatennetz ein, so läßt sich tatsächlich in der oben geforderten Weise eine Gerade nahe an den Meßpunkten vorbeiführen (Abb. 1). Durch graphische Auswertung wie beschrieben ergeben sich

$$\alpha = 0{,}37, \quad \lambda = 6{,}81, \quad k = 10{,}6.$$

In Tabelle 1 sind die $D_{lc}\,50$-Werte der Zeit-Menge-Formel gegenübergestellt den D_{lc}-Werten von Hildebrandt (17), den daraus gebildeten Mittelwerten $\overline{D_{lc}}$, sowie den nach der Formel (1) von Geppert (18) berechneten $\overline{D_{lc}}$ (sämtliche Werte in mg/kg).

Tabelle 1 zeigt, daß die nach (6b) berechneten $D_{lc}\,50$-Werte im Gegensatz zu den Werten von Geppert (18) nach (1) für alle c innerhalb der von Hildebrandt (17) beobachteten Grenzen (Stab 4) liegen. Darüber hinaus ist die Übereinstimmung mit den Mittelwerten D_{lc} von Hildebrandt (17) nicht schlecht.

Tabelle 1.

c in mg/kg · Min.	$D_{lc}\,50$ nach (6b)	D_{lc} nach (1)	D_{lc} empirisch	$\overline{D_{lc}}$ empirisch
0,0666	0,594	0,443	0,552 – 0,881	0,633
0,0333	0,397	0,355	0,360 – 0,475	0,414
0,0166	0,277	0,288	0,212 – 0,299	0,250
0,0100	0,220	0,246	0,143 – 0,305	0,221
0,00666	0,189	0,217	0,150 – 0,229	0,192
0,00333	0,150	0,175	0,115 – 0,164	0,134
0,00166	0,128	0,141	0,086 – 0,200	0,128
0,000833	0,113	0,114	0,096 – 0,143	0,115
0,000500	0,107	0,098	0,061 – 0,135	0,092

Zur kontrollierenden Bestimmung von α und k aus (4) wurden einige praktisch zeitlose Injektionen an Katzen ausgeführt *.

Zwecks Angleichung der Versuchsbedingungen an die Verhältnisse bei der langsamen Infusion wurden die 1,6—3,5 kg schweren Tiere mit 0,2 g Pernokton pro kg (bei rektaler Verabreichung) und etwas zusätzlichem Äther betäubt. Die Injektionen erfolgten innerhalb von etwa einer halben Minute in die freigelegte V. jug. int. Das injizierte Volumen Lösungsmittel (Kochsalzlösung) betrug 0,1 bis 0,4 ccm. Als Zeitpunkt des Todes wurde der palpatorisch ermittelte Herzstillstand gewertet.

In Tabelle 2 sind die zu den Dosen D gemessenen individuellen Reaktionszeiten T_l wiedergegeben (D in mg/kg, T_l vom Zeitpunkt der halben

* Für verständnisvolle Hilfe hierbei sowie bei den später geschilderten Versuchen sei den Herren Kurt Moldsen und Hans Weber auch an dieser Stelle bestens gedankt.

Injektionsdauer an gerechnet in Minuten oder Stunden). Jedem T_l-Wert entspricht also ein Individuum. Die $T_l 50$ wurde nur für die kleinste Dosis $D = 0{,}11$ direkt abgezählt, sonst aber als geometrisches Mittel der T_l-Werte bestimmt. Sind nämlich, wie meist, die $\log D_l$ um $\log D_l 50$ normal verteilt (siehe I.), ist also mit anderen Worten $D_l 50$ das geometrische Mittel der D_l, so sind nach (4) für nicht zu kleines D auch die T_l-Werte ähnlich um $T_l 50$ gruppiert.

Tabelle 2.

D	T_l	$T_l 50$
0,4	6′; 6′; 7′	6,3′
0,22	8′; 10′; 11′	9,6′
0,13	18′; 19′; 22′	19,5′
0,11	26′; 35′; 46′; 60′	35′
0,1	32′; 70′; 24 Std.; überlebt	
0,091	überlebt; überlebt; 24 Std.	

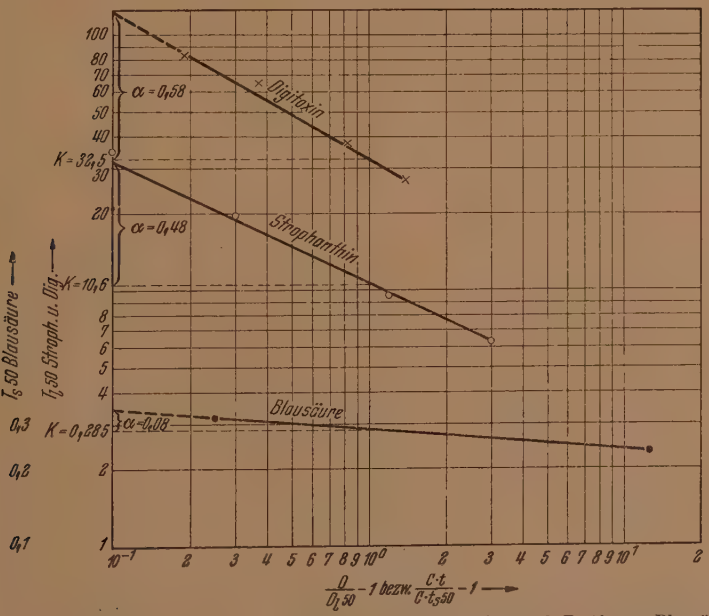


Abb. 2. Reaktionszeit $T_l 50$ von Digitoxin sowie Strophanthin und $T_s 50$ von Blausäure in Minuten in Abhängigkeit von $\frac{D}{D_l 50} - 1$ bzw. $\frac{C \cdot t}{C \cdot t_s 50} - 1$. Doppelt logarithmisch geteilte Koordinaten, Einheit = 33,5 mm. Weitere Erklärungen siehe Text.

Bei der Bestimmung der $D_l 50$ des Tiermaterials mußte berücksichtigt werden, daß dieser Wert in Parallele zu den aus ihm herzuleitenden D_{lc} 50-Werten nur auf die spätestens nach wenigen Stunden eintretende Primärreaktion bezogen werden durfte, nicht aber auf das durch die später hinzutretenden Sekundärerscheinungen beeinflußte Vergiftungsbild. Infolgedessen wurde lediglich der innerhalb der ersten 3 Stunden auftretende Herzstillstand als Tod gewertet. In diesem Sinne ergibt sich aus Tabelle 2

nach der Methode von Behrens und Kärber (8)* $D_l\,50 = 0{,}1$ mg/kg mit einer für den vorliegenden Zweck genügenden Schärfe.

Trägt man nun $T_l\,50$ in Abhängigkeit von $D/D_l\,50 - 1$ in doppelt logarithmische Koordinaten ein, so ergibt die Verbindungslinie der $T_l\,50$-Punkte angenähert eine Gerade (Abb. 2). Die Richtigkeit von (4) innerhalb gewisser Grenzen von D ist hiermit bewiesen. Man erhält dann direkt

$$k = 10{,}6, \qquad \alpha = 0{,}48.$$

Die Abweichung dieser Werte, namentlich der die Wirkungsgeschwindigkeit besonders charakterisierenden Konstanten k von den zuvor nach (6b) berechneten ist nicht groß und überschreitet, wenn überhaupt, nur wenig die durch die Streuung der Dosen bedingten Fehlergrenzen.

2. Digitoxin (Merck).

Wie bei g-Strophanthin wurden der graphischen Darstellung von (6b) die $\overline{D_{lc}}$-Werte von Hildebrandt (17) als $D_{lc}\,50$ zugrunde gelegt, ferner als $D_l\,50$ der bei kleinster Infusionsgeschwindigkeit ($c = 0{,}00083$) beobachtete Minimalwert $\overline{D_{lc}} = 0{,}244$ (s. Abb. 1).

Dann ergibt sich

$$\alpha = 0{,}48, \quad \lambda = 13{,}1, \quad k = 29{,}8.$$

In Tabelle 3 sind wiederum die nach der Zeit-Menge-Formel bestimmten $D_{lc}\,50$-Werte verglichen mit den D_{lc}-Werten Hildebrandts (17), ferner mit den daraus gebildeten Mittelwerten $\overline{D_{lc}}$ sowie den Ergebnissen der Formel (1) von Geppert (18).

Ähnlich wie bei Strophanthin liegen auch hier die berechneten $D_{lc}\,50$ innerhalb der von Hildebrandt (17) beobachteten Grenzen. Wiederum ist die Übereinstimmung mit den Mittelwerten $\overline{D_{lc}}$ durchschnittlich etwas besser als bei Berechnung nach (1).

Bei der Bestimmung von α und k aus (4) wurde in derselben Weise wie bei Strophanthin vorgegangen, nur erfolgte diesmal die Betäubung der Tiere durch 0,4 g/kg Pernokton i. m., ferner betrug die Injektionsdauer $1-1^1/_2$ Minuten,

Tabelle 3.

c in mg/kg · Min.	$D_{lc}\,50$ nach (6b)	$\overline{D_{lc}}$ nach (1)	D_{lc} empirisch	$\overline{D_{lc}}$ empirisch
0,0333	1,084	1,017	0,845–1,192	1,040
0,0250	0,934	0,913	0,810–1,409	1,035
0,0166	0,784	0,784	0,582–1,022	0,766
0,0100	0,619	0,647	0,482–0,916	0,632
0,00666	0,528	0,555	0,267–0,743	0,515
0,00500	0,479	0,498	0,358–0,619	0,471
0,00333	0,422	0,428	0,248–0,610	0,386
0,00166	0,359	0,332	0,356–0,474	0,411
0,000833	0,314	0,254	0,180–0,314	0,244

* Unter Annahme einer normalen Verteilung der $\log D_l$ um $\log D_l\,50$.

und die injizierte Substanzmenge war in 0,05 bis 0,2 ccm eines Alkohol-Glyceringemisches im Volumenverhältnis 1 : 1 gelöst.

Tabelle 4.

D	T_l	$T_l\,50$
0,8	19′; 28′; 31′; 33′	27′
0,6	27′; 36′; 39′; 64′	38′
0,46	34′; 62′; 70′; 2 Std.	65′
0,4	76′; 83′; 2½ Std.; 24 Std.	83′
0,3	3 Std.; 12 Std.; 24 Std.; überlebt	
0,2	überlebt; überlebt; 24 Std.	

Tabelle 4 enthält die zu den Dosen D (in mg/kg) bestimmten T_l und $T_l\,50$ (in Minuten bzw. Stunden). $T_l\,50$ wurde wie beim Strophanthin durch Mittelwertbildung bestimmt, nur für die kleinste Dosis $D = 0{,}4$ wurde $T_l\,50$ wiederum direkt abgezählt.

Definiert man die $D_l\,50$ wiederum ähnlich wie beim Strophanthin, so berechnet sich ihr Wert nach Behrens und Kärber (8) zu 0,335 mg/kg. Dann nimmt (4) den in Abb. 2 dargestellten Verlauf und es ergeben sich

$$\alpha = 0{,}58 \quad \text{und} \quad k = 32{,}5.$$

Zieht man in Betracht, daß für Digitoxin eine verhältnismäßig starke Streuung der Dosen und Zeiten typisch ist, so kann die Übereinstimmung der Werte mit den nach (6b) bestimmten befriedigen.

3. Blausäure.

Bei Anwendung der Zeit-Menge-Formel (6a) auf die Einatmung von gasförmigen Giften bedeutet nach Abschnitt III

$$c = P \cdot C,$$

wenn C die Gaskonzentration und P einen Proportionalitätsfaktor darstellen. (2) nimmt dann die Form an

$$D_l = P \cdot C \cdot t_l.$$

Führt man diese Ausdrücke für c und D_l in (6) ein und bezieht in gewohnter Weise alle Werte auf 50 % der Tiere, so lautet die Zeit-Menge-Formel

$$C \cdot T_{lc}\,50 = \lambda \cdot (C \cdot t_l\,50)^{\frac{\alpha}{\alpha+1}} \cdot C^{\frac{1}{\alpha+1}} + C \cdot t_l\,50. \qquad (6c)$$

Man kann also sagen: Die Zeit-Menge-Formel behält auch für gasförmige Gifte ihre Gültigkeit, wenn man darin in der für Gase üblichen Weise $D_{lc}\,50$ und $D_l\,50$ durch $C \cdot T_{lc}\,50$ bzw. $C \cdot t_l\,50$ ausdrückt und an Stelle der Zufuhrgeschwindigkeit c die Gaskonzentration C setzt.

Bevor man die Zeit-Menge-Formel auf Gase anwendet, ist es nötig, sich daran zu erinnern, daß ganz allgemein ihre wichtigste Voraussetzung (2) die Proportionalität von Zeit und Dosis ist, die nur dann erfüllt ist, wenn erstens die entgiftende oder ausscheidende Tätigkeit des Organismus gering und zweitens die Zufuhrgeschwindigkeit konstant ist. Die Zufuhrgeschwindigkeit kann aber bei der Einatmung von Gasen meist nur dann konstant bleiben, wenn Atemtiefe und -frequenz sich während der Ein-

atmung nicht ändern. Eine solche Änderung ist aber fast immer den Vergiftungserscheinungen beigesellt und zwar um so stärker, je schwerer diese sind. Die Zeit-Menge-Formel gibt also die besten Werte, wenn sie anstatt auf den Tod auf eine andere markante, möglichst am Anfang der Vergiftungserscheinungen liegende Reaktion bezogen wird. Eine derartige Reaktion ist beim Meerschweinchen das Umfallen in die Seitenlage nach Einatmung von Blausäure. Dieser Vorgang soll nun im Folgenden durch die Zeit-Menge-Formel dargestellt werden. Hierbei mögen sämtliche Symbole für Dosen und Zeiten sinngemäß den Index s an Stelle von l erhalten.

Zunächst ist es notwendig, die Gültigkeitsgrenzen von (2) festzulegen, mit anderen Worten das Produkt $C \cdot t_s 50$ für verschiedene C-Werte auf Konstanz zu prüfen. Hierzu wurden die Tiere gruppenweise für verschiedene sukzessiv ansteigende Zeiten t der analytisch gemessenen Gaskonzentration C ausgesetzt derart, daß entsprechend der Reihe der t-Werte eine von 0 bis 100 % ansteigende Reihe der Prozentzahlen p für die reagierenden Tiere pro Gruppe erhalten wurde.

Praktisch geschah dies folgendermaßen: Das Blausäure-Luftgemisch wurde hergestellt durch Eingießen einer gewogenen Menge Blausäure in einen etwa 10 cbm großen dichten Raum, in den von außen zwei verschließbare Rohrstutzen hineinführten. Die während des Versuchs praktisch konstant bleibende Gaskonzentration C wurde analytisch bestimmt, indem ein durch Rotameter gemessenes Gasvolumen in Waschflaschen mit 0,1 n Silbernitratlösung absorbiert und der durch Blausäure unverbrauchte Rest Silbernitrat mit Ammoniumrhodanid gegen Eisenalaun als Indikator titriert wurde. Die 300—500 g schweren Versuchstiere saßen in einem etwa 5 Liter fassenden dichten Kasten, der mit Glasscheiben versehen war und an seiner Vorder- und Hinterseite je einen zu- bzw. ableitenden Rohrstutzen besaß. Der zuleitende Stutzen war durch einen weiten Schlauch mit dem einen Stutzen des Raumes verbunden. Mit Hilfe zweier Gebläsemotoren, die etwa 0,5 cbm/Min. förderten, wurde das Gasluftgemisch des Raumes durch den Kasten hindurchgesaugt und über den zweiten Stutzen dem Raume wieder zugeführt. Durch rasches Überstülpen und nachfolgendes Abstreifen der Verbindungsschläuche von den Rohrstutzen des Raumes, das in Bruchteilen einer Sekunde geschah, war es leicht möglich, die Tiere plötzlich der Gaskonzentration auszusetzen und nach Ablauf der gewünschten Einatmungszeit t ebenso rasch wieder ihr zu entziehen.

Da, wie später durch den Versuch bestätigt, Dosis und Einatmungszeit einander proportional sind, müssen bei einer normalen Verteilung der D_s oder $\log D_s$ auch die t_s entsprechend gruppiert sein. Die für 50 % der Tiere wirksame Einatmungszeit $t_s 50$ ist demnach aus den angewandten Zeiten t mit Hilfe einer der in Abschnitt I genannten Methoden genau so zu bestimmen wie $D_l 50$ aus den D-Werten. In Tabelle 5 sind die nach der Methode von Behrens und Kärber (8) bestimmten $t_s 50$ (in Sekunden) zusammen mit den entsprechenden Gaskonzentrationen (in mg/cbm) wiedergegeben. Zur Kennzeichnung des Streuungsbereiches der t_s sind jeweils auch die zu den Prozentzahlen $p = 0$ und $p = 100$ gehörigen Einatmungszeiten $t_s 0$ bzw. $t_s 100$ dargestellt. Ferner enthält Tabelle 5 die Reaktionszeiten $T_{sc} 50$, die aus den T_{sc} direkt durch Abzählen gewonnen wurden. Daneben sind die Grenzen der Streuung von T_{sc} durch

$T_{sc}\,0$ und $T_{sc}\,100$ angedeutet, also diejenigen Zeiten, bei denen gerade noch 0 % bzw. gerade bereits 100 % der Tiere reagierten. Schließlich sind aus Tabelle 5 die Produkte $C \cdot t_s\,50$ und $C \cdot T_{sc}\,50$ ersichtlich, in denen $t_s\,50$ und $T_s\,50$ diesmal in Minuten ausgedrückt sind. Die Zahl der Tiere, an der die Werte bestimmt wurden, betrug 10—20 pro $t_s\,50$ und 5—10 pro $T_{sc}\,50$.

Tabelle 5.

C	$t_s\,0$	$t_s\,100$	$t_s\,50$	$C \cdot t_s\,50$	$T_{sc}\,0$	$T_{sc}\,100$	$T_{sc}\,50$	$C \cdot T_{sc}\,50$
150 000					11,5	13,5	12	30 000
26 000					12,5	17	15	6 500
11 800	2	3,6	2,8	552	13	23	17	3 340
4 930	5	9	7	575	18	30	25	2 060
2 400	10	18	14	560	28	37	33	1 320
1 120	25	36	30	560	45	55	50	935
780	35	60	45	585	54	99	70	910
580	60	140	98	950	65	125	105	1 015

Man erkennt aus Tabelle 5, daß $C \cdot t_s\,50$ für $C \leqq 780$ und entsprechend $t_s\,50 \leqq 45$ durchschnittlich ungefähr 560 beträgt und im Rahmen der normalen Streuung konstant ist, (2) also bis zu dieser Grenze Gültigkeit besitzt. Bei niedrigerem C und entsprechend längerer Einatmungszeit macht sich dagegen die Entgiftungswirkung des Organismus allmählich bemerkbar, indem $C \cdot t_s\,50$ langsam ansteigt, um schließlich bei $C = 580$ bereits den Wert 950 zu erreichen. Danach ist die Zeit-Menge-Formel auf die diskutierte Reaktion nur bei Einatmungszeiten anwendbar, die 45 Sekunden nicht wesentlich übersteigen, d. h. also bei $C \geqq$ etwa 1100 (s. Tab. 5).

Bildet man nun entsprechend der Differenz $D_{lc}\,50 - D_l\,50$ bei infundierten Stoffen diesmal die Differenzen $C \cdot T_{sc}\,50 - C \cdot t_s\,50$ und trägt diese Werte als Ordinaten in doppelt logarithmischen Koordinaten gegen C als Abszisse ein (Abb. 1), so ist der Zusammenhang wiederum angenähert linear und gehorcht somit (6c). Es ergeben sich dann

$$\alpha = 0{,}099, \quad \lambda = 0{,}34, \quad k = 0{,}28.$$

Zur kontrollierenden Bestimmung von α und k nach (4) wurden die Tiere möglichst zeitlos vergiftet, indem sie kurze Zeiten t von 3 bis höchstens 3,6 Sekunden der Gaskonzentration ausgesetzt wurden. Da diese Zeitspanne im Verhältnis zu der sehr kurzen Reaktionszeit $T_s\,50$ immer noch ziemlich groß ist, wurde $T_s\,50$ folgender Korrektur unterworfen: Wie in Abschnitt III ausgeführt wurde, setzt die Zeit-Menge-Formel voraus, daß für $c \cdot t \leqq D_l$, d. h. also für $t \leqq t_l$ die Reaktionsgeschwindigkeit gleich Null ist. Zur Ermittlung der Reaktionszeit bei zeitloser Zufuhr ist also von der bei Anwendung der Einatmungszeit t beobachteten Reaktionszeit noch $t_s\,50$ abzuziehen. In Tabelle 6 sind die bei der Gaskonzentration C (in mg/cbm) und der Einatmungszeit t (in Sekunden) beobachteten T_s-Werte sowie die daraus gebildeten $T_s\,50$ (in Sekunden) wiedergegeben.

Tabelle 6.

C	t	$t_s 50$	$C \cdot t$	T_s	$T_s 50$	$T_s 50$ korrigiert
11 800	3,6	2,8	710	19 ; 21 ; 21,5 ; 22 ; 22 22,5 ; 25 ; 25	22	~ 19
150 000	3	$<0{,}5$	7 500	13,5 ; 13,5 ; 14 ; 14 14 ; 16	14	~ 14

Nach (4) war in doppelt logarithmischen Koordinaten $T_l 50$ von $\frac{D}{D_l 50} - 1$ linear abhängig. An Stelle des letztgenannten Ausdrucks tritt bei Gasen wegen der Proportionalität von Dosis und $C \cdot t$ der Ausdruck $\frac{C \cdot t}{C \cdot t_l 50} - 1$, in dem hier diskutierten speziellen Falle also $\frac{C \cdot t}{C \cdot t_s 50} - 1$. Dieser Wert ist in Abb. 2 als Abszisse gegen $T_l 50$ (in Minuten) als Ordinate dargestellt. Durch graphische Auswertung der Verbindungslinie der $T_s 50$ Punkte erhält man dann

$$\alpha = 0{,}08, \quad k = 0{,}285,$$

also Werte, die mit den aus (6c) bestimmten ausreichend übereinstimmen

V. Schlußfolgerungen.

Die in Abschnitt IV geschilderten drei Beispiele lassen erkennen, daß die Zeit-Menge-Formel die bei verschiedenen Zufuhrgeschwindigkeiten oder Gaskonzentrationen benötigten wirksamen Dosen bzw. $C \cdot T_{sc}$-Werte angenähert darstellt. Die Zeit-Menge-Formel kann demnach bei der Konzentrationsbestimmung von Giften in Lösungen oder in der Luft von Nutzen sein, indem sie bei Kenntnis von $D_l 50$ bzw. $C \cdot t_l 50$, ferner von α und k zu jedem gemessenen $T_{lc} 50$-Wert das gesuchte c bzw. C liefert. Darüber hinaus bestätigen die Beispiele die in Abschnitt III und IV ausgesprochene Erwartung, daß die Konstanten der Zeit-Menge-Formel α und besonders k die Wirkungsgeschwindigkeit einer Giftreaktion anschaulich charakterisieren. k bedeutet angenähert die Reaktionszeit der doppelten kleinsten wirksamen Dosis, wogegen α ungefähr die Zunahme der Reaktionsgeschwindigkeit oder, was dasselbe ist, die Abnahme der Reaktionszeit mit ansteigender Dosis kennzeichnet. In diesem Sinne ergab sich am Meerschweinchen für die sehr rasch wirkende Blausäure $k = 0{,}28'$, an der Katze für das langsam wirkende Digitoxin $k = 29{,}8'$, und für das hinsichtlich seiner Wirkungsgeschwindigkeit dazwischenstehende Strophanthin $k = 10{,}6'$. Dieser Abstufung der k-Werte entspricht die Reihenfolge derjenigen Zufuhrzeiten T_{lc}, für die D_{lc} oder D_{sc} sich den Werten von D_l bzw. D_s am meisten annähern (s. Abschnitt III). Diese Zufuhrzeit beträgt für Blausäure etwa $1-1^1/_4'$, für Strophanthin und Digitoxin nach Hildebrandt (17) 2—3 Stunden bzw. $\geqq 5$ Stunden. Die Abnahme der Reaktionszeit mit ansteigender Dosis ist bei Digitoxin und Strophanthin

erheblich und ungefähr gleich. Die doppelte D_l 50 wirkt ungefähr doppelt so schnell wie die 1,3fache D_l 50. Dies kommt in den relativ hohen α-Werten von 0,48 bzw. 0,36 zum Ausdruck. Bei Blausäure bewirkt dagegen eine ähnliche Dosissteigerung nur eine ganz geringe Zunahme der Wirkungsgeschwindigkeit, nämlich um etwa 10 %. Entsprechend beträgt α nur 0,099.

Zusammenfassung.

Es wird der Vorgang der Vergiftung durch langsame Infusion des Giftes in Parallele gesetzt zur Einatmung gasförmiger Gifte. In beiden Fällen ist die zur Auslösung eines biologischen Effektes erforderliche Dosis abhängig von der Dauer ihrer Zufuhr. Für dieses Abhängigkeitsverhältnis wird ausgehend von der Dosis-Reaktionszeit-Relation von Ipsen (20) eine Formel abgeleitet, in der als Konstanten die für zeitlose Injektion gültige kleinste wirksame Dosis sowie zwei Konstanten α und k vorkommen. k ist angenähert identisch mit der Reaktionszeit nach zeitloser Verabreichung der doppelten kleinsten wirksamen Dosis, dagegen liefert die Größe von α einen Anhalt für die Zunahme der Reaktionsgeschwindigkeit bei ansteigender Dosis. Am Beispiel der langsamen Infusion von Digitoxin und Strophanthin sowie der Einatmung von Blausäure wird nachgewiesen, daß die empirischen Mengen zusammen mit ihren zugehörigen Zeitwerten der Formel angenähert genügen. Ferner wird dabei nachgewiesen, daß α und k tatsächlich genähert den oben erwähnten Sinn besitzen.

Die Bedeutung der Zeit-Menge-Formel beruht demnach erstens in ihrer Anwendbarkeit auf die Konzentrationsbestimmung langsam infundierter oder eingeatmeter Gifte, zweitens in der Möglichkeit, durch die Konstanten α und namentlich k die Wirkungsgeschwindigkeit der Gifte zahlenmäßig zu charakterisieren.

Literatur.

1) de Lind van Wijngaarden, C.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **113**, 40 (1926). — 2) Trevan, I. W.: Proc. roy. Soc., London, Ser. B, Biol. Sci. **101**, 483 (1927). — 3) Prigge, R., u. W. Schäfer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 297 (1939). — 4) van der Waerden, B. L.: Ebenda **195**, 389 (1940). — 5) Hazen, A.: Trans. amer. Soc. Civ. Engineers **77**, 1539 (1914). — 6) Gaddum, J. H.: Spezial report series, Medical research Council **183**, 5 (1933). — 7) Fisher, R. A.: Proc. Cambridge philos. Soc., Biol. Sci. **22**, 700 (1924). — 8) Behrens, B., u. G. Kärber: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **177**, 379 (1935). — 9) Hatcher, R., u. I. Brody: Amer. J. Pharmacy **82**, 360 (1910). — 10) Straub, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **198**, 189 (1941); **199**, 427 (1942). — 11) Hauptstein, P.: Ebenda **126**, 121 (1927). — 12) Lendle, L.: Ebenda **169**, 392 (1933). — 13) Fromherz, K., u. A. Welsch: Ebenda **161**, 266 (1931). — 14) Bauer, H., u. K. Fromherz: Klin. Wschr. **1933**, S. 973. — 15) Haferkorn, M., u. L. Lendle: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **175**, 248 (1934). — 16) Mehnert: Ebenda **184**, 185 (1937). — 17) Hildebrandt, F.: Ebenda **199**, 568 (1942). — 18) Geppert, M. P.: Ebenda **199**, 672 (1942). — 19) Flury, F., u. F. Zernik: Schädliche Gase. Berlin, Springer, 1931. — 20) Ipsen, J.: Contribution to the Theory of Biological Standardisation, Abh. I, Kopenhagen 1941; Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 536 (1941). — 21) Glenny: Zit. nach Ipsen, s. d. — 22) Gehlen, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **171**, 541 (1933).

Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Medizinische Forschung Heidelberg, Institut für Pathologie (Stellvertr. Direktor: Prof. R. Kuhn).

Über die Wirkung des Phlorrhizins auf die Zellatmung.

III. Mitteilung*:

Von

Rolf Wetzel**.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 23. Mai 1943.)

In einer ersten Mitteilung über die Wirkung des Phlorrhizins auf die Zellatmung[1] konnte gezeigt werden, daß Phlorrhizin die Verbrennung von Kohlehydraten in Leberschnitten kh-reich ernährter Ratten fast völlig hemmt. In einer weiteren Arbeit mit R. von Zitzewitz[2] ist dann der Nachweis gelungen, daß auch die Veratmung direkt zugesetzter Glucose durch Phlorrhizin hemmbar ist. Gleichzeitig mit unseren Untersuchungen ist eine Reihe von Arbeiten erschienen, die in verschiedener Richtung und mit teilweise gegenteiligen Ergebnissen das Problem der Phlorrhizinwirkung neu aufgegriffen haben. W. Fleischmann[3] konnte in Übereinstimmung mit unseren eigenen Versuchen eine Hemmung der Veratmung direkt zugesetzter Glucose an Rattenhirnschnitten und an Bäckerhefe nachweisen. Die Ursache dieser Hemmung sieht Fleischmann allerdings, abweichend von den Anschauungen Lundsgaards und Verzárs, nicht in der spezifischen Hemmung der Zuckerphosphorylierung, sondern in einer allgemeinen Blockierung der Zelloberflächen durch das stark oberflächenaktive Phlorrhizin. Seine Hypothese gründet sich auf eigene Versuche, welche die leichte Absorbierbarkeit von Phlorrhizin an Tierkohle und Hefe zeigen, sowie auf histologische Befunde von Okada[4] und Ellinger und Lambrechts[5], wonach sich die Tubulusepithelien phlorrhizin-vergifteter Nieren vom Lumen der Tubuli aus nicht mehr färben lassen.

Von anderer Seite wieder konnten weitere Stützen für die spezifische Beeinflussung der Phosphorylierungsvorgänge durch Phlorrhizin beigebracht werden. Parnas[6], Ostern u. Mitarbeitern[7,8] und Schäffner

---

* Der experimentelle Teil der Arbeit wurde im Juli 1939 abgeschlossen.

** Assistent der Mediz. Klinik Freiburg i. Br., als Stabsarzt d. L. z. Zt. im Felde.

[1] Wetzel, R., u. C. Meadows: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 192 (1937). — [2] Wetzel, R., u. R. v. Zitzewitz: Ebenda **195**, 52 (1940). — [3] Fleischmann, W.: Biochem. Z. **231**, 415 (1937). — [4] Okada, zitiert nach Keller, R.: Der elektrische Faktor der Nierenarbeit. Mährisch-Ostrau 1933. — [5] Ellinger, P., u. A. Lambrechts: J. Physiol. (Brit.) **89**, 30 P (1937). — [6] Parnas: Enzymologia (Nd.) **5**, 166 (1938/39). — [7] Ostern, P., I. A. Guthke u. I. Terszakowec: Soc. Biol. **121**, 1133 (1936). — [8] Ostern, P., u. D. Holmes: Nature **1939**, II, S. 34.

und Specht[9,10] ist es gelungen, die Teilreaktionen der Phosphorylose des Glykogens aufzuklären, die zur Bildung des Embden-Esters führen. Der erste Vorgang besteht in einer Aufspaltung des Glykogens, wobei eine Veresterung mit anorganischem Phosphat stattfindet, durch ein inzwischen von Kiessling[11] als Protein C aus Hefe isoliertes Ferment. Als Reaktionsprodukt entsteht zunächst Cori-Ester, der sich bei Anwesenheit von Protein A über Gluco-pyranose-6-phosphorsäure in Embden-Ester umlagert. Dieser erste Vorgang ist durch Phlorrhizin hemmbar. An ihn schließt sich die Phosphorylierung des Embden-Esters durch Adenosintriphosphorsäure zu Fructose- (1, 6)-diphosphorsäureester (Harden-Young-Ester) an. Diese zweite Reaktion wird durch Phlorrhizin nur geringfügig beeinflußt[8]. Von den Reaktionen, die sich an den Zerfall der Hexosediphosphorsäure anschließen, soll nach Kalckar[12] nur die Dismutation der Triosephosphorsäure in Glycerinphosphorsäure und Phosphoglycerinsäure durch Phlorrhizin hemmbar sein, nicht jedoch die Spaltung des Hexosediphosphats selbst und die Umphosphorylierungsreaktionen, die über das Adenylsäuresystem verlaufen. Es dürfte somit erwiesen sein, daß das Phlorrhizin in erster Linie die mit der Aufspaltung des Glykogens verknüpften Phosphorylierungsvorgänge hemmt. In Einklang damit stehen unsere eigenen Beobachtungen an Leberschnitten mit Milchsäurezusatz[13], die unter Phlorrhizin gegenüber phlorrhizin-freien Kontrollen keine Herabsetzung des respiratorischen Quotienten zeigten, woraus geschlossen werden konnte, daß die Veratmung der Milchsäure durch Phlorrhizin nicht hemmbar ist.

Einen neuen Hinweis auf den Ort der Phlorrhizinwirkung schien uns eine ältere Beobachtung von Frouin[14] zu geben, der in Versuchen an Hunden die Phlorrhizinwirkung durch gleichzeitige Injektion von Methylenblau aufheben konnte. Bei der Bedeutung des Methylenblaus als Atmungskatalysator, die erst kürzlich durch Møller[15] am cyan-vergifteten Kaninchen in besonders eindrucksvoller Weise nachgewiesen werden konnte, war daran zu denken, daß Methylenblau den durch Phlorrhizin an einer bestimmten Stelle gestörten Atmungsvorgang durch Übernahme von Substratwasserstoff und dessen direkter Oxydation wieder in Gang bringt, wobei es ähnlich wie beim cyan-vergifteten Gewebe die Rolle des Atmungsferments übernimmt. Eine Stütze fand diese Annahme durch die Beobachtung von Hoff[16], daß Lactoflavin, das ähnliche Reduktions-Oxydationseigenschaften wie Methylenblau besitzt, gegenüber Phlorrhizin ebenfalls antagonistisch wirken kann.

Da wir in unseren früheren Versuchen neben einer Wirkung des Phlorrhizins auf die Verbrennung von Kohlehydraten eine allgemein die

---

[9] Schäffner u. Specht: Hoppe-Seylers Z. **251**, 144 (1938). — [10] Schäffner u. Specht: Naturw. **26**, 494 (1938). — [11] Kiessling, W.: Ebenda **27**, 129 (1939). — [12] Kalckar, H.: Nature **136**, 872 (1935). — [13] Wetzel, R., u. C. Meadows: l. c. — [14] Frouin, H.: Soc. Biol. **62**, 411 (1907). — [15] Møller, M. H.: Skand. Arch. Physiol. (D) **72**, 103 (1935). — [16] Hoff, H.: Klin. Wschr. **1938**, II, S. 1535.

Sauerstoffzehrung herabsetzende Wirkung beobachtet hatten, schienen uns weitere Versuche in dieser Richtung notwendig. Die komplizierten und schwierig zu deutenden Verhältnisse, die wir hinsichtlich der Wirkung des Phlorrhizins auf die cyan-resistente Restatmung angetroffen hatten[17], wurden durch weitere Versuche vervollständigt, wobei besondere Sorgfalt auf die exakte Bestimmung der Kohlensäurebildung der Restatmung gelegt wurde. An diese Versuche schlossen sich weitere an, welche die Wirkung des Phlorrhizins auf die Sauerstoffzehrung bestimmter Fermentreaktionen (d-Aminosäureoxydase, altes gelbes Ferment) zum Gegenstand hatten.

Die Frage der antagonistischen Beeinflussung der Phlorrhizinwirkung durch Methylenblau und Lactoflavin wurde in einer Arbeit gemeinsam mit K. H. Pfeffer[18] untersucht, wobei der Einfluß beider Farbstoffe am phlorrhizin-vergifteten Gesamttier und am phlorrhizin-vergifteten Lebergewebe geprüft wurde.

A. Atmungsversuche am isolierten Lebergewebe.

Methodik.

Als Versuchstiere dienten weiße männliche Ratten aus eigener Zucht von 150—200 g Gewicht, die 3—4 Wochen vor dem Versuch mit einem gleichmäßig zusammengesetzten Kuchen ernährt wurden[19]. Die im Hungerzustand untersuchten Ratten blieben 5—7 Tage vor der Tötung ohne Nahrung. Die kohlehydrat-ernährten Tiere wurden während der letzten 7 Tage mit Milchreis und Zucker gefüttert. Die fettreich ernährten Ratten erhielten 5—7 Tage ausschließlich fetten Spickspeck. Der Schwierigkeit einer reinen Fettdarreichung, die auch bei Ratten zur Nahrungsverweigerung führen kann, läßt sich dadurch begegnen, daß man den Speck leicht anbrät, wodurch er schmackhafter wird. Eine bis zu 7tägige Fettdarreichung läßt sich so ohne Schwierigkeiten erzielen. Die eiweißreich ernährten Tiere wurden 7 Tage vor der Tötung ausschließlich mit Trockenfleisch und Wasser gefüttert. Sämtliche Tiere standen vor dem Versuch unter dauernder Gewichtskontrolle. Es wurden nur Tiere verwendet, die sich im Gewichtsanstieg befanden.

Die Gewebeatmung wurde wie früher nach Dickens und Simer[20] gemessen. Für die Versuche in Serum haben wir nicht die von diesen Autoren angegebene Bicarbonatmethode angewandt, die durch die Verwendung von Clerici-Lösung als Absperrflüssigkeit nach den an unserem Institut vorliegenden Erfahrungen von Henle und Szpingier[21] zu

[17] Wetzel, R., u. R. v. Zitzewitz: l. c. — [18] Wetzel, R., u. K. H. Pfeffer: im Druck. — [19] Nähere Angaben bei Wetzel, R., H. Wollschitt, H. Ruska u. Th. Oestreicher: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 86 (1935). — [20] Dickens, F., u. W. Simer: Abderhaldens Handb. IV, 13, Heft 5, S. 539. — [21] Henle, W., u. W. Szpingier: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **180**, 672 (1936).

schwer übersehbaren Fehlern Anlaß geben kann. Henle und Szpingier haben statt dessen Manometer mit Brodie-Lösung verwandt, die zur Aufnahme des beim Ansäuern der Bicarbonatlösung entstehenden beträchtlichen Kohlensäuredruckes eine Länge von 1 m erforderlich machten. Bei den geringen CO_2-Mengen, die in den Versuchen mit KCN-Zusatz zu erwarten waren, wird die Kohlensäurebestimmung um so ungenauer werden, je größer der Betrag an Leerkohlensäure ist. So können sich, wie Henle und Szpingier bestimmt haben, allein durch kleine Fehler beim Einpipettieren der Bicarbonatlösung Differenzen von 3—4 mm Kohlensäure ergeben, die bei einer zu erwartenden Atmungskohlensäurebildung von 20—30 mm beträchtlich ins Gewicht fallen müssen. Wir haben uns daher zu einem etwas anderen Vorgehen entschlossen, das darin bestand, das Serum mit Phosphat umzupuffern. Man geht dabei folgendermaßen vor:

In einer Serumprobe (Pferdeserum nach Bering) wird der Kohlensäuregehalt manometrisch durch Austreiben der Kohlensäure nach Ansäuern aus dem Serumbicarbonat bestimmt. Dieser Wert wird auf das Gesamtserum umgerechnet, von dessen Kohlensäure nun durch Ansäuern mit n/10 HCl $^3/_4$ der gebundenen Kohlensäure in Freiheit gesetzt wird. Das Ansäuern wird am besten in einem Schüttelkolben vorgenommen, in den man die berechnete Salzsäuremenge tropfenweise aus einer Bürette in das Serum unter dauerndem Umschütteln einfließen läßt. Dann wird die Kohlensäure im Vakuum ausgepumpt und Phosphatpuffer nach Sørensen in fester Form im Verhältnis des einzustellenden p_H (7,4) zugegeben. Die erforderliche Gesamtmenge hat außer dem Volumen des ungepufferten Serumanteils noch den durch das Ansäuern bedingten Flüssigkeitszuwachs zu berücksichtigen, wobei für das Gesamtvolumen die für Gewebeversuche übliche Pufferkonzentration von m/15 gewählt wurde. Das umgepufferte Serum wird dann in der üblichen Weise durch zweimaliges $2^1/_2$stündiges Erwärmen auf 56° inaktiviert und in kleinen Ampullen eingeschmolzen, im Eisschrank aufbewahrt. Es kann nun ohne weiteres zu Versuchen mit der Phosphatmethode von Dickens und Simer verwandt werden. Die Methode arbeitet bekanntlich nach folgendem Prinzip:

In je einem Atmungsgefäß wird die gesamte Kohlensäure (Restcarbonat des Serums, präformierte Gewebskohlensäure und Atmungskohlensäure) zur Zeit t_0 und t_1 durch Ansäuern mit Citronensäure ausgetrieben. In einem dritten Gefäß ohne Gewebe wird nur die Serumkohlensäure bestimmt. Die Zeit t_0 des einen Gefäßes, die etwa 10—15 Min. nach Einsetzen der Manometer in den Thermostaten rechnet, gibt den Beginn, die Zeit t_1 des anderen Gefäßes das Ende der Sauerstoffbestimmung an. Das Zeitintervall $t_1 - t_0$ entspricht dann der eigentlichen Meßdauer, die je nach Größe der Atmung auf 1—2 Stunden festgelegt wurde. Bezeichnet man den Druckverlust der Sauerstoffmessung mit H_{O_2}, den Druckanstieg der Kohlensäurebestimmung zur Zeit t_0 und t_1 mit $H^{t_0}_{CO_2}$ und $H^{t_1}_{CO_2}$

und den Druckanstieg der Serumkohlensäurebestimmung mit $H_{CO_2}^{Serum}$, so errechnet sich der Sauerstoffverbrauch in cmm pro mg Gewebe aus

$$TQ_{O_2} = \frac{x_{O_2}}{\text{Gewebegew. in mg}},$$

wobei $x_{O_2} = H_{O_2} \cdot k_{O_2}$; die Kohlensäurebildung aus

$$TQ_{CO_2} = \frac{x_{CO_2}^{t_1}}{\text{Gewebegew. in mg}} - \frac{x_{CO_2}^{t_0}}{\text{Gewebegew. in mg}},$$

wobei

$$x_{CO_2}^{t_1} = (H_{CO_2}^{t_1} \cdot k_{CO_2}) - (H_{CO_2}^{Serum} \cdot k_{CO_2})$$

und

$$x_{CO_2}^{t_0} = (H_{CO_2}^{t_0} \cdot k_{CO_2}) - (H_{CO_2}^{Serum} \cdot k_{CO_2}).$$

Der mit $x_{CO_2}^{t_0}$ bezeichnete Kohlensäurebetrag, der in erster Linie die präformierte Gewebskohlensäure, daneben aber noch etwas Atmungskohlensäure (vom Einbringen des Schnittes bis zur Zeit t_0) enthält, ist natürlich abhängig von der Größe des Gewebeschnittes, so daß er auf 1 mg Gewebetrockengewicht umgerechnet von der ebenfalls auf die Gewichtseinheit bezogenen Gesamtkohlensäure abgezogen werden muß.

Als Atmungsgefäße dienten die von Dickens und Šimer für die Bicarbonatmethode angegebenen. Das Gewebe wurde in 1 ccm Serum suspendiert, der Nebenraum mit 0,7 ccm gesättigter $Ba(OH)_2$-Lösung, die beiden Anhänge mit je 0,25 ccm 4 n-Citronensäure beschickt. Das Austreiben der gebundenen CO_2 mit Citronensäure geht verhältnismäßig langsam vor sich. Es wurde deshalb in Abständen von 10 Minuten zweimal umgeschüttelt und so lange abgelesen, bis kein Druckanstieg mehr erfolgte. Der Druckanstieg bei der Messung der Serumkohlensäure beträgt durchschnittlich 90 mm und ist daher mit den gewöhnlichen, mit Brodie-Flüssigkeit gefüllten Manometern gut zu messen. Da die Genauigkeit der Kohlensäuremessung, wie man aus dem oben angeführten Beispiel leicht einsieht, von drei verschiedenen Meßwerten abhängt, haben wir für diese jeweils Doppelbestimmungen ausgeführt. In den Hemmungsversuchen mit Phlorrhizin wurde die präformierte Kohlensäure auch mit Zusatz von Phlorrhizin bestimmt, da der erwähnte kleine Betrag an Atmungskohlensäure, der bis zur Zeit t_0 entsteht, in den Ansätzen mit Phlorrhizin infolge der Atmungshemmung kleiner ausfallen konnte als in den normalen.

In den Versuchen mit Blausäurezusatz hatten wir mit weiteren Schwierigkeiten zu rechnen, die durch die Anwesenheit der Blausäure in der Suspensionsflüssigkeit und im Gasraum gegeben war. Schon Krebs hat für die Warburg-Methode auf Fehlerquellen bei der Sauerstoffbestimmung hingewiesen, die von van Heyningen[22] näher untersucht wurden. Durch die Absorption von Blausäuregas in der Kalilauge des inneren

[22] van Heyningen: Zit nach Oppenheimer, Die Fermente, Suppl. IX (1939).

Atmungstroges kommt es zu Störungen der Sauerstoffmessung, die sich nach Ansicht des Verfassers dadurch vermeiden lassen, daß man statt reiner Kalilauge ein Gemisch von Kalilauge und KCN verwendet, das dieselbe Konzentration an freier HCN besitzt wie die Suspensionsflüssigkeit.

In unserer Versuchsanordnung kann sich eine Störung der Sauerstoffmessung durch Blausäuregas nicht auswirken. In der KCN-haltigen Suspensionsflüssigkeit wird sich eine bestimmte Konzentration an freier HCN einstellen, die vom p_H des Puffers abhängig ist. Die HCN-Tension im Gasraum dürfte jedoch praktisch $= 0$ sein, weil die bei neutralem p_H zu erwartenden geringen Blausäuregasmengen durch die Absorptionslauge chemisch gebunden werden. Dasselbe gilt für die etwa durch Glykolyse ausgetriebene Blausäure. Dagegen können Störungen bei der CO_2-Bestimmung auftreten. Durch das Ansäuern der KOH und der Suspensionsflüssigkeit wird neben der gebundenen CO_2 die gesamte Blausäure aus ihrem Kalisalz mitausgetrieben, so daß für das aus dem Druckanstieg berechnete Kohlensäurevolumen eine Korrektur für das darin enthaltene Blausäurevolumen notwendig ist. Die oben für die Berechnung der CO_2 aufgestellten Beziehungen lauten dann:

$$TQ_{CO_2} = \frac{x^{t_1}_{CO_2}}{\text{Gewebegew. in mg}} - \frac{x^{t_0}_{CO_2}}{\text{Gewebegew. in mg}},$$

$$x^{t_1}_{CO_2} = H^{t_1}_{CO_2} \cdot k_{CO_2} - H^{Serum}_{CO_2} \cdot k_{CO_2} - H_{HCN} \cdot k_{CO_2},$$

$$x^{t_0}_{CO_2} = H^{t_0}_{CO_2} \cdot k_{CO_2} - H^{Serum}_{CO_2} \cdot k_{CO_2} - H_{HCN} \cdot k_{CO_2}.$$

Die Hauptschwierigkeit für die Berechnung der mitausgetriebenen Blausäure liegt darin, daß diese in den Druckanstieg $H^{t_1}_{CO_2}$ und $H^{t_0}_{CO_2}$ mit eingeht und bei der Berechnung des CO_2-Volumens aus dem Druckanstieg und der Gefäßkonstanten der CO_2 als Kohlensäure mitberechnet wird. Das in Abzug zu bringende Blausäurevolumen muß daher aus dem Blausäuredruck H_{HCN} und der Gefäßkonstanten der CO_2 berechnet werden. Da in allen Versuchsansätzen mit KCN gleiche HCN-Mengen zur Verwendung kamen, wurde dieser Wert in einer Versuchsreihe festgelegt, bei der in mehreren Atmungströgen mit gleichen KCN-Mengen in Phosphatringer unter Einhaltung der üblichen Versuchsbedingungen die Blausäure mit Citronensäure ausgetrieben wurde. Dabei zeigte sich, daß von der gesamten in Freiheit gesetzen Blausäure rund $^2/_3$ in den Gasraum übergingen, während $^1/_3$ in Lösung blieb.

Ein Einwand läßt sich gegen unsere Versuchsanordnung geltend machen, der darin besteht, daß in den Ansätzen mit Gewebe ein Teil der Blausäure an das Gewebe adsorbiert wird, so daß weniger ausgetrieben wird als in den Leerversuchen ohne Gewebe. Ein dadurch bedingter Fehler würde sich jedoch dahin auswirken, daß der Blausäureabzug zu groß und die berechnete TQ_{CO_2}-Menge zu klein wird. Bei den an und für sich hohen CO_2-Werten, die wir für die cyan-resistente Restatmung gefunden

haben, sind größere Fehler in dieser Richtung unwahrscheinlich. Auch müßten sich dann in der gleichen Versuchsreihe erhebliche Unterschiede in den TQ_{CO_2}-Werten verschieden großer Gewebeschnitte finden, die nicht beobachtet wurden. Der Versuchsfehler der CO_2-Bestimmung ist mit 10 bis 15% zu veranschlagen. Um ihn möglichst klein zu halten, wurden für jeden Versuchswert Doppel- bzw. Dreifachbestimmungen vorgenommen.

Ergebnisse.

I. Wirkung des Phlorrhizins auf die Leberatmung verschieden ernährter Ratten.

Unsere früheren Versuche[23] über die Phlorrhizinwirkung am isolierten Gewebe wurden in Phosphatringer ausgeführt, dessen Verwendung sowohl bei der Warburgschen Methode als auch bei der Methode von Dickens und Simer die direkte Bestimmung der Atmungskohlensäure durch Bindung an KOH erlaubt. Warburg[24] hat gegen die Verwendung von Phosphatringer geltend gemacht, daß dieser für die meisten tierischen Gewebe ein unphysiologisches Milieu darstelle, das die Zellatmung schädige. So konnte er zeigen, daß die Blausäurehemmungen von nur 50—70%, die Dixon und Elliot[25] bei verschiedenen Geweben fanden, auf die Verwendung von Phosphatringer zurückzuführen waren. Von ihm selbst und anderen[26] wurden in Bicarbonatringer und in Kohlensäure-Sauerstoffatmosphäre annähernd 100% Hemmungen gefunden. Es ist ferner bekannt[27, 28], daß die Zellatmung in Phosphatringer nicht die gleiche Höhe erreicht wie in Carbonatringer oder Serum, was ebenfalls für eine Schädigung der Gewebe spricht. Da nach diesen Untersuchungen anzunehmen war, daß die Wirkungsbedingungen von Gewebeschnitten in Phosphatringer sowohl in bezug auf ihre Atmung als auch hinsichtlich ihrer Ansprechbarkeit auf Zellgifte verändert sind, haben wir einen Teil unserer früheren Messungen mit Serum als Suspensionsflüssigkeit wiederholt, um zu prüfen, ob Phlorrhizin die Atmung in Serum anders beeinflußt als in Phosphatringer.

Für die Beurteilung unserer Ergebnisse war ferner die Frage von Bedeutung, ob der Stoffwechsel des isolierten Gewebes von den am intakten Organ bekannten Verhältnissen abweicht. Daß in quantitativer Hinsicht hier große Unterschiede bestehen, die von Grafe[29] auf den Fortfall zentralnervöser hemmender Faktoren zurückgeführt wurden, ist bekannt. Druckrey[30] hat sich neuerdings in sehr gründlichen Untersuchungen der Mühe unterzogen, den Einfluß der verschiedensten Faktoren auf die

---

[23] Wetzel, R., u. C. Meadows: l. c. — [24] Warburg, O., Biochem. Z. **231**, 493 (1931). — [25] Dixon, M., u. K. A. C. Elliot: Biochem. J. (Brit.) **23**, 812 (1929). — [26] Alt, H. L.: Biochem. Z. **221**, 498 (1930). — [27] Meyerhof, O., u. K. Lohmann: Ebenda **171**, 381 (1926). — [28] Dickens, F., u. W. Simer: Biochem. J. (Brit.) **25**, 985 (1931). — [29] Grafe, Reinwein u. Singer: Biochem. Z. **165**, 102 (1925). — [30] Druckrey, H.: Arch. exper. Zellforsch. **22**, 587 (1939).

Gewebeatmung, von der Anfertigung der Schnitte an über die zahlreichen Manipulationen bis zu ihrer Einbringung in die Versuchströge zu untersuchen. Dabei zeigte sich, daß bei Einhaltung bestimmter Versuchsbedingungen die spezifische Funktion der Gewebe hinsichtlich ihrer Ansprechbarkeit auf verschiedene Pharmaka weitgehend erhalten bleibt.

Nachdem es in neuerer Zeit gelungen war, den respiratorischen Quotienten der Gewebeatmung exakt zu bestimmen, wurden von anderer Seite Zweifel laut, ob der Gewebestoffwechsel nicht doch in qualitativer Hinsicht stark verändert ist. Ein Hinweis darauf wurde in den teilweise sehr niederen respiratorischen Quotienten verschiedener Gewebe gesehen, die der bis dahin fast allgemein herrschenden Vorstellung widersprachen, daß die normale Zelle fast ausschließlich Kohlehydrate oxydiert. Nun wurden zwar für eine Reihe von Geweben (Muskel, Hirn, Retina) RQ von annähernd 1,0 gefunden. Für die meisten Gewebe lagen diese jedoch erheblich tiefer, teilweise sogar bei Werten, die eine vollständige Verbrennung der Zellstoffe in Frage stellten. Für die Leber wurden von den meisten Untersuchern RQ zwischen 0,4 und 0,8 gefunden[31, 32, 33]. Dickens und Šimer[34] zogen daraus den Schluß, daß die Leber im Gegensatz zu anderen Organen ihren Stoffwechsel in erster Linie aus der Verbrennung von Fett bestreitet. Von Elliot und Baker[35] wurde auf die großen Unterschiede hingewiesen, die man hinsichtlich des RQ und der Glykolyse der Leberatmung bei gefütterten und Hungertieren antrifft. Ihre RQ liegen bei gefütterten Tieren zwischen 0,8 und 1,0, bei entsprechend hohen Glykolysewerten ($Q_M^{N_2} = 12{,}0$). Da nach diesen Untersuchungen ein wesentlicher Einfluß der Vorernährung der Versuchstiere auf den Gewebestoffwechsel der Leber zu erwarten war, der auch für die Beurteilung der Phlorrhizinwirkung von Bedeutung sein mußte, haben wir durch Versuche an einseitig ernährten Ratten diese Frage zu klären versucht.

1. Normalatmung.

Die in Tabelle 1 verzeichneten Atemwerte entstammen drei verschiedenen Ernährungsgruppen (5—7 Tage Hungertiere, fett- und kh-reich ernährte Tiere). In Tabelle 4 finden sich neben den Werten der cyanvergifteten Atmung weitere Normalwerte. In Tabelle 1 wurde neben dem Gesamtmittel aus sämtlichen Einzelwerten noch ein zweiter Mittelwert aus den Einzelwerten einer besonders gleichmäßigen Tierreihe (Nr. 968—989) berechnet, die aus Würfen von 5—7 Tieren zusammengesetzt war. Die Berechnung der Kh- und Fettbilanz für die Leberatmung der verschiedenen

[31] Dickens, F., u. W. Šimer: Biochem. J. (Brit.) **24**, 1301 (1930); **25**, 985 (1931); F. Dickens u. G. W. Greville: Ebenda **27**, 1123 (1933). — [32] Gemmill, C. L., u. E. G. Holmes: Biochem. J. (Brit.) **29**, 338 (1935). — [33] Meyerhof, O., u. K. Lohmann: l. c. — [34] Dickens, F., u. W. Šimer: l. c. — [35] Elliot, K. A. C., u. Z. Baker: Biochem. J. (Brit.) **29**, 2433 (1935).

Tabelle 1. Abhängigkeit der Leberatmung in phosphatgepuffertem Serum vom Ernährungszustand und ihre Beeinflussung durch Phlorrhizin.

Tier Nr.	Art der Vorbehandlung	Normal			Phlorrhizin				Bemerkungen
		TQ_{O_2}	TQ_{CO_2}	RQ	TQ_{O_2}	Hemmung in % der NA.*	TQ_{CO_2}	RQ	
916	6 Tage Hunger	10,9	6,8	0,62	8,0	27	4,2	0,52	
968	„	9,8	6,1	0,62	7,6	22	4,0	0,53	
978	„	10,2	6,1	0,60	8,0	22	4,6	0,58	
979	„	10,1	6,0	0,59	8,0	22	4,6	0,58	
982	5 Tage Hunger	9,5	6,0	0,63	7,4	22	3,9	0,53	
988	„	9,8	5,9	0,61	7,9	19	4,4	0,56	
	Mittelwerte:	**10,1**	**6,2**	**0,61**	**8,0**	**22**	**4,3**	**0,55**	
905	Fettreiche Ernährung	9,7	6,5	0,67	5,6	42	1,9?	0,34?	
906	„	13,1	7,2	0,55?	5,9	57?	3,1	0,53	
909	„	9,0	7,9	0,88	7,2	20	5,7	0,79	
926	„	10,0	7,1	0,71	6,2	38	3,2	0,52	Leber wenig fett
969	„	11,0	9,1	0,83	8,5	23	6,1	0,72	
976	„	10,0	8,4	0,84	7,9	21	5,5	0,70	
977	„	10,1	8,2	0,81	8,0	21	5,5	0,69	Leber sehr fett
981	„	10,0	8,4	0,84	8,1	19	6,0	0,74	
983	„	10,4	8,2	0,79	8,2	21	5,6	0,68	Leber wenig fett
989	„	10,3	8,6	0,83	8,1	21	5,8	0,72	
	Mittelwerte:	**10,4 (10,3)**	**7,9 (8,5)**	**0,77 (0,82)**	**7,4 (8,1)**	**28 (21)**	**4,9 (5,8)**	**0,66 (0,71)**	
907	Kh-reiche Ernährung	13,8	10,2	0,74	7,4	46	5,0	0,68	
908	„	11,8	10,7	0,91	8,1	31	4,7	0,58	
915	„	13,7	11,4	0,83	7,8	43	3,9	0,50	
970	„	13,2	12,0	0,91	8,7	34	6,2	0,71	
971	„	13,4	12,2	0,91	8,9	34	6,1	0,69	
974	„	13,3	11,9	0,90	9,0	32	6,5	0,79	
975	„	13,0	11,9	0,92	8,9	32	6,2	0,70	
984	„	12,9	10,5	0,81	8,5	34	5,9	0,65	
	Mittelwerte:	**13,1 (13,2)**	**11,4 (11,7)**	**0,87 (0,89)**	**8,4 (8,8)**	**36 (33)**	**5,6 (6,2)**	**0,67 (0,71)**	

* NA. = Normalatmung.

Ernährungsgruppen (s. unten) wurde aus den Mittelwerten dieser Tierreihe vorgenommen.

Der Sauerstoffverbrauch war bei den Fett- und Hungertieren etwa gleich hoch (10,2) und um 30 % tiefer als bei den eiweiß- und kh-reich ernährten Ratten. Die RQ zeigten die zu erwartende deutliche Abhängigkeit von der Ernährungslage. Die niedersten Werte wurden entsprechend den Angaben der Literatur bei den Hungertieren gefunden. Bei den gefütterten Tieren weisen die kh- und die eiweißreich ernährten die höchsten,

die fettreich ernährten die niedersten Werte auf. Abb. 1 bringt eine Gegenüberstellung zum Glykogengehalt und dem Anteil der Kh an den Gesamtverbrennungen (s. unten).

Unsere Versuche haben somit klar erwiesen, daß die Stoffwechsellage der Leberzellen einen wesentlichen Einfluß auf die Art ihrer Verbrennungen ausübt. Daß diese gerade in der Leber besonders stark von der Ernährungslage abhängt, konnte schon früher gezeigt werden[36]. Die Steuerung des Stoffwechsels erfolgt wahrscheinlich vom Glykogengehalt aus, der wieder bezüglich seines Aufbaues von der Zufuhr von Kohlehydraten durch die Pfortader abhängt. Ist diese groß, wie bei den kh-reich ernährten Tieren, so erscheinen die Kh bevorzugt in den Verbrennungen der Leberzellen, ist sie klein, wie bei den Hunger- und fettreich ernährten Tieren, so stellen sich diese offenbar auf die Verbrennung von Fett um. Dieser schon früher für die stoffliche Zusammensetzung der Leber bewiesene Antagonismus Fett-Glykogen bestätigt sich daher auch in funktioneller Hinsicht. Daß es sich dabei letzten Endes um Verschiebungen im Fermentapparat der Zelle handelt, geht aus den Untersuchungen von Elliot und Baker[37] hervor, die nachweisen konnten, daß die Fähigkeit zur Milchsäurebildung aus zugesetzter Glucose bei gefütterten Ratten diejenige von Hungerratten beträchtlich übersteigt. Damit dürfte auch die Frage nach der qualitativen Verschiedenheit von Zell- und Organstoffwechsel im negativen Sinne zu beantworten sein, da die an die intakte Zelle gebundene, den Bedürfnissen des Stoffwechsels angepaßte Fermentstruktur, die den Stoffumsatz in erster Linie bestimmt, im Gewebeschnitt weitgehend erhalten bleibt.

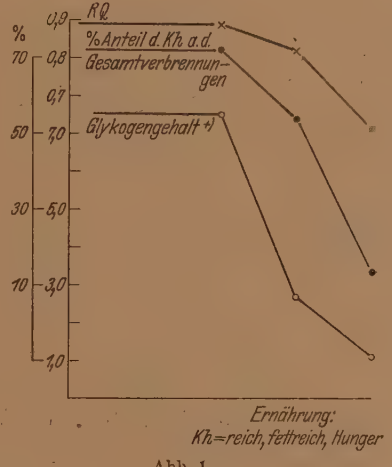


Abb. 1.

Die größere Intensität der Atmung in Serum gegenüber Phosphatringer, auf die eingangs hingewiesen wurde, fand sich auch in unseren Versuchen, wie aus der Gegenüberstellung der Serumatemwerte mit den früher in Phosphatringer gemessenen hervorgeht (s. Tabelle 1a).

Ein Unterschied in den respiratorischen Quotienten war dagegen nicht festzustellen. Daß der in Serum gemessene höhere Sauerstoffverbrauch

* Der Arbeit Wetzel, R., u. Th. Heid: Naunyn-Schmiedebergs Arch. 181, 689 (1935) entnommen.

[36] Wetzel, R., H. Wollschitt, H. Ruska u. Th. Oestreicher: Naunyn-Schmiedebergs Arch. 181, 703 (1935). — [37] Elliot, K. A. C., u. Z. Baker: l. c.

Tabelle 1a. Abhängigkeit von Sauerstoffverbrauch und RQ vom Ernährungszustand in Phosphatringer und in Serum. Mittelwerte aus Tabelle 1 und 4.

	Phosphatringer		Serum	
	TQ_{O_2}	RQ	TQ_{O_2}	RQ
Hungertiere	5,3	0,60	10,0	0,61
Fettreich ernährte Tiere	7,3	0,73	10,6	0,72
Eiweißreich „ „	9,2	0,88	12,7	0,91
Kh-reich „ „	8,2	0,88	13,1	0,86

dem verbrennungsfördernden Einfluß der Serummilchsäure zuzuschreiben ist, wie Meyerhof und Lohmann[38] früher angenommen haben, ist nach unseren Ergebnissen nicht wahrscheinlich. Es müßten sich sonst in Serum höhere RQ finden, weil Milchsäure, wie früher gezeigt werden konnte, die Atmung von Lebergewebe in Phosphatringer steigert, wobei es zu einem deutlichen Anstieg des RQ kommt.

Ein Einfluß der Umpufferung des Serums mit Phosphat war an unseren Werten nicht zu erkennen. Man kann daraus schließen, daß die günstige Wirkung des Serums auf die Atmung weniger durch seinen Bicarbonatgehalt als durch andere noch unbekannte Substanzen hervorgerufen wird, die den künstlichen Nährsubstraten fehlen.

2. Phlorrhizin-vergiftete Atmung.

In der ersten Mitteilung[39] über die Wirkung des Phlorrhizins auf die Zellatmung konnte gezeigt werden, daß Phlorrhizin die Oxydation von Kohlehydraten fast völlig hemmt. Es blieb aber damals noch die Frage offen, ob die allgemeine Herabsetzung der Zellatmung unter Phlorrhizin allein durch die Hemmung der Kh-Verbrennung erklärt werden kann, oder ob daran noch andere Oxydationsprozesse beteiligt sind. Wie im folgenden gezeigt werden soll, ist diese Frage nicht ohne weiteres aus dem Verhalten des RQ zu beantworten. Ein Absinken desselben auf 0,70 braucht noch keine völlige Hemmung der Kh-Verbrennung zu bedeuten, weil nach den Angaben der Literatur bei ausschließlicher Fettverbrennung in Folge der gleichzeitigen Bildung unvollständiger Verbrennungsprodukte mit wesentlich niedrigeren RQ gerechnet werden muß. Im folgenden ist versucht worden, von den am einfachsten zu übersehenden Verhältnissen in der Hungerleber ausgehend, eine Bilanz der Zellatmung in bezug auf ihre beiden wichtigsten Donatoren Fett und Kohlehydrat aufzustellen, die zur Größe der Phlorrhizinhemmung in Beziehung gesetzt am ehesten darüber Auskunft geben konnte, welche Verbrennungsprozesse an der Hemmung der Gesamtatmung beteiligt sind.

[38] Meyerhof, O., u. K. Lohmann: Biochem. Z. 171, 381 (1926). — [39] Wetzel, R., u. C. Meadows: l. c.

a) Hungertiere.

Die Berechnung des Anteils der Kohlehydrate und des Fetts an den Gesamtverbrennungen aus dem RQ mit Hilfe der bekannten Beziehungen[39a]

$$O_2\text{-Verbrauch (Kh)} = O_2\text{-Verbrauch (Gesamt)} \cdot \frac{RQ_{ges.} - RQ_{Fett}}{RQ_{Kh} - RQ_{Fett}}$$

und

$$O_2\text{-Verbrauch (Fett)} = O_2\text{-Verbrauch (Gesamt)} \cdot \frac{RQ_{Kh} - RQ_{ges.}}{RQ_{Kh} - RQ_{Fett}}$$

hat die Kenntnis der RQ der reinen Fett- und Kohlehydratverbrennung zur Voraussetzung. Für den normalen Gesamtorganismus sind diese Werte seit Rubners grundlegenden Untersuchungen genügend genau bekannt. Sie entsprechen dem theoretisch zu erwartenden Verhältnis von CO_2-Bildung zu O_2-Verbrauch, das bei vollständiger Verbrennung zu CO_2 und H_2O zu erwarten ist. Beim isolierten Gewebe liegen die Verhältnisse insofern anders, als es für bestimmte Gewebe zweifelhaft ist, ob die Verbrennung des Fetts bis zu den Endprodukten der totalen Oxydation verläuft. Quastel und Mitarbeiter[40, 41] haben die Verbrennung zugesetzter Fettsäuren durch Lebergewebe untersucht und gefunden, daß bei Verbrennung von Fettsäuren mit gerader Kohlenstoffzahl Acetessigsäure als faßbares unvollständiges Verbrennungsprodukt in einem der Atmungssteigerung entsprechenden Ausmaß entsteht. Aus dem Verhältnis von zusätzlichem Sauerstoffverbrauch zur Acetessigsäurebildung haben Jowell und Quastel[42] für die ausschließliche Verbrennung von Fett folgende Reaktionsgleichung aufgestellt:

$$(C_{18}H_{35}O_2)_3C_3H_5 + 57^1/_2\,O_2 = 33\,CO_2 + 37\,H_2O + 6\,CH_3 \cdot \underset{\underset{O}{\|}}{C} \cdot CH_2COOH,$$

für die sich ein RQ von 0,57 errechnet, der also weit unter dem bei vollständiger Verbrennung zu erwartenden Wert von 0,704 liegt.

Die von uns bei Hungertieren gemessenen RQ (s. Tabelle 1) liegen etwas über dem Wert der englischen Autoren, was vermuten läßt, daß neben Fett noch andere Zellstoffe oxydiert werden. Sieht man von einer Verbrennung von Eiweiß ab, die für die Hungerleber bestritten wird[43, 44], so können hierfür nur Kh in Frage kommen. Wie früher gezeigt werden konnte, enthält die Leber von länger hungernden Ratten noch genügend Glykogen (s. Abb. 1), um dessen gleichzeitige Verbrennung neben Fett möglich erscheinen zu lassen. Vielleicht ist sogar der Umsatz der an und für sich schwer angreifbaren Fettsäureketten an die gleichzeitige Ver-

[39a] Siehe Krauss, Lehrbuch der Stoffwechselmethodik. — [40] Quastel, J. A., u. A. M. Wheatley: Biochem. J. (Brit.) **27**, 1753 (1933); **28**, 1014 (1934) — [41] Jowell, M., u. J. A. Quastel: Ebenda **29**, 2181 (1935). — [42] Jowell, M., u. J. A. Quastel: l. c. — [43] Krebs, A.: Klin. Wschr. **11**, 1744 (1932). —, [44] Dickens, F., u. G. D. Greville: Biochem. J. (Brit.) **27**, 1123 (1933).

brennung einer bestimmten Menge von Kohlehydraten gebunden, im Sinne der alten klinischen Vorstellung, daß die Fette im Feuer der Kohlehydrate verbrennen.

Eine weitere Bestätigung unserer Annahme sehen wir in dem Absinken der RQ unter Phlorrhizin, durch die nunmehr vollständige Hemmung der Kh-Verbrennung. Für den phlorrhizin-resistenten Atmungsanteil würden sich dann die Bedingungen ergeben, die wir eingangs suchten, nämlich eine ausschließliche Verbrennung von Fett, oder mit anderen Worten, der RQ der phlorrhizin-vergifteten Hungeratmung entspricht dem tatsächlichen RQ der Fettverbrennung in Leberschnitten. Der dafür gefundene Wert von 0,55 steht in guter Übereinstimmung zu dem Wert von Jowell und Quastel, der auf einem ganz anderen Wege gefunden wurde.

Der Berechnung des Anteils der Kh an den Gesamtverbrennungen stehen nun keine Schwierigkeiten mehr im Wege. Er errechnet sich aus obiger Gleichung ($RQ_{Kh} = 1{,}0$, $RQ_{Fett} = 0{,}55$) zu 13%. Setzt man ihn in Beziehung zur Hemmung des Sauerstoffverbrauchs unter Phlorrhizin (20%), so sieht man, daß diese größer ist, als bei ausschließlicher Hemmung des Anteils der Kh an den Gesamtoxydationen zu erwarten wäre. Es bestätigt sich daher unsere frühere Annahme, daß Phlorrhizin in der Hungerleber noch andere Oxydationsprozesse hemmt.

Da früher gezeigt werden konnte[45], daß ein Zusatz von Glucose zu Phosphatringer die Leberatmung von länger hungernden Ratten unter Verbrennung eines Teiles der zugesetzten Glucose um etwa 15—20% steigern kann, war noch zu prüfen, ob der geringe Umsatz von Kh, der von uns beobachtet wurde, aus der Serumglucose stammt. Es wurde daher bei 6 Tieren der Tabelle 1 (Nr. 968—988) der Einfluß zugesetzter Glucose (0,2%) auf die Atmung untersucht. Wie aus den in Tabelle 2 verzeichneten Werten hervorgeht, ruft Glucose im Serum keine Steigerung der Atmung hervor, wohl aber konnte aus dem deutlichen Anstieg des RQ geschlossen werden, daß ein Teil derselben in die Oxydationen der Leberzellen unter Einsparung eines entsprechenden Anteils Fett einbezogen wird. Berechnet man den Sauerstoffverbrauch der Kh-Verbrennung, so liegt dieser mit einem TQ_{O_2} von 2,6 und einem Anteil von 26% an den Gesamtverbrennungen rund 100% höher als in den Versuchen ohne Glucose. Da zugesetzte Glucose also zweifellos die Kh-Oxydationen steigert, kann nicht sicher entschieden werden, ob der geringe Kh-Umsatz der Hungerleber aus ihren eigenen Glykogenbeständen oder aus der Serumglucose bestritten wird. Wahrscheinlicher ist uns die erste Annahme, weil für Serum und Phosphatringer gleich hohe RQ gefunden wurden (s. Tabelle 1 a). Auch ist für die Hungerleber eine, wenn auch nur geringe Glykolyse nachgewiesen worden (Dickens und Greville[46], Elliot und Baker[47]), die

[45] Wetzel, R., u. R. v. Zitzewitz: l. c. — [46] Dickens, F., u. G. D. Greville: l. c. — [47] Elliot, K. A. C., u. Z. Baker: l. c.

Tabelle 2. Beeinflussung der Leberatmung von fettreich ernährten — und Hungerratten in phosphatgepuffertem, glucosehaltigem Serum durch Phlorrhizin.

Tier Nr.	Art der Vorbehandlung	Zusätze zum Serum	Normal			Phlorrhizin		
			TQ_{O_2}	RQ	Steigerung durch Zusatz	TQ_{O_2}	RQ	Hemmung durch Phlorrhizin *
968	6 Tage Hunger	—	9,8	0,62	—	7,6	0,53	22 %
		0,2 % Glucose	10,1	0,69	3 %	7,7	0,55	24 %
978	„	—	10,2	0,60	—	8,0	0,58	22 %
		0,2 % Glucose	10,2	0,73	0 %	8,2	0,58	20 %
979	„	—	10,1	0,60	—	8,0	0,58	21 %
		0,2 % Glucose	10,2	0,63	1 %	8,2	0,58	20 %
982	5 Tage Hunger	—	9,5	0,63	—	7,4	0,53	22 %
		0,2 % Glucose	9,6	0,64	1 %	7,7	0,54	19 %
988	„	—	9,8	0,61	—	7,9	0,55	19 %
		0,2 % Glucose	10,0	0,68	2 %	8,0	0,57	20 %
Mittelwerte		**ohne Zusatz**	**9,9**	**0,61**	—	**7,8**	**0,56**	**21 %**
		0,2 % Glucose	**10,0**	**0,67**	**1 %**	**8,0**	**0,56**	**20 %**
969	fettreich ernährt	—	11,0	0,83	—	8,5	0,72	22 %
		0,2 % Glucose	12,0	0,90	9 %	9,5	0,81	21 %
976	„	—	10,0	0,84	—	7,9	0,70	21 %
		0,2 % Glucose	11,1	0,88	11 %	9,0	0,80	19 %
977	„	—	10,1	0,81	—	8,0	0,69	20 %
		0,2 % Glucose	10,9	0,82	8 %	8,9	—	18 %
981	„	—	10,0	0,84	—	8,1	0,74	15 %
		0,2 % Glucose	11,2	0,93	12 %	9,1	0,80	19 %
983	„	—	10,4	0,79	—	8,2	0,68	21 %
		0,2 % Glucose	11,1	0,91	7 %	9,0	0,78	19 %
989	„	—	10,3	0,83	—	8,1	0,72	20 %
		0,2 % Glucose	11,3	0,90	10 %	9,1	0,74	19 %
Mittelwerte		**ohne Zusatz**	**10,3**	**0,82**	—	**8,1**	**0,71**	**21 %**
		0,2 % Glucose	**11,3**	**0,89**	**10 %**	**9,1**	**0,79**	**19 %**

* Hemmung ist bezogen auf Normalatmung ohne Glucosezusatz!

mit einem $Q\frac{N_2}{M}$ von 1,3 in völliger Übereinstimmung zu dem von uns gefundenen $TQ_{O_{2Kh}}$ von 1,3 steht.

Auf die phlorrhizin-resistente Atmung ist der Glucosezusatz ohne Einfluß. Diese weist dieselben TQ_{O_2}-Werte und RQ auf wie die zuckerfreien Kontrollen. Die Herabsetzung der Gesamtatmung (20 %) entspricht in diesen Versuchen dem Anteil der Kh an den Gesamtoxydationen (26 %), so daß das Phlorrhizin hier ausschließlich die Verbrennung der Kh hemmt.

Die eingangs gestellte Frage, ob das Phlorrhizin noch andere Oxydationsprozesse als die der Kh hemmt, ist daher in Übereinstimmung zu unseren früheren Befunden grundsätzlich zu bejahen. Dies könnte zu einer Einschränkung

der bisher angenommenen spezifischen Wirkung des Phlorrhizins auf die Kh-Verbrennung führen, wenn sich nicht gleichzeitig gezeigt hätte, daß Phlorrhizin bei einem genügenden Anteil derselben an der Zellatmung diese immer zuerst hemmt und erst in zweiter Linie auch andere Oxydationsprozesse.

b) Kohlehydraternährte Tiere.

Die Beurteilung der Phlorrhizinwirkung in der kh-reichen Leber wird durch zwei Tatsachen erschwert, die die Aufstellung einer Kohlehydrat-Fettbilanz nur unter bestimmten Voraussetzungen möglich machen. Erstens wissen wir nicht, ob die Verbrennung des Fettes in der kh-reichen Leber ebenso unvollständig ist wie in der Hungerleber. Quastel und Wheatley[48] haben das aus ihren Versuchen angenommen, weil sie durch Zusatz von Glykogen, Glucose oder Milchsäure keine vollständigere Verbrennung der zugesetzten Fettsäuren erzielen konnten. Demgegenüber stehen aber die älteren Befunde Wertheimers[49], der an Phlorrhizin-Hungerhunden durch Zufütterung von Kh ein rasches Verschwinden der Acetonkörper aus der Leber feststellen konnte. Eine zweite Schwierigkeit ist darin zu sehen, daß in der kh-reichen Leber sicher mit einer Verbrennung von Eiweiß zu rechnen ist. Das geht schon aus den Versuchen von Krebs[50] hervor und ist auch durch die negativen Befunde von Dickens und Greville[51] nicht auszuschließen, denen entgegengehalten werden kann, daß auch bei fehlender NH_3- und Harnstoffbildung in der Leber ein Umsatz von Aminosäuren durch Umaminierung möglich ist (Braunstein und Kritzmann[52]). Es soll trotzdem versucht werden, den Kh-Umsatz für den gefundenen mittleren RQ von 0,89 zu berechnen, wobei angenommen wird, daß das Fett wie in der Hungerleber mit einem RQ von 0,55 verbrannt wird und entsprechend den Verhältnissen des Gesamtorganismus 15% der Oxydationen durch Eiweiß bestritten werden. Rechnet man diese in den RQ der Fettverbrennung mit ein, so nimmt dieser den Wert 0,61 an, wobei der Verbrennung von Eiweiß zu NH_3, CO_2 und H_2O ein RQ von 0,94 zugrunde gelegt wurde. Der Anteil der Kh am Gesamtsauerstoffverbrauch errechnet sich dann mit 72%.

Entsprechend dem höheren Kh-Umsatz der kh-reichen Leber erwies sich auch die Hemmung der Atmung durch Phlorrhizin (33%) größer als in der Hunger- und Fettleber. Sie bleibt jedoch erheblich zurück hinter der bei vollständiger Hemmung der Kh-Verbrennung zu erwartenden Abnahme von 72%. Es erhebt sich daher die Frage, ob der Differenzbetrag von 39% der Oxydation anderer Zellstoffe zuzuschreiben ist, die an Stelle der Kh treten, oder ob die Verbrennung der Kh nur teilweise gehemmt

[48] Quastel, J. A., u. A. M. Wheatley: l. c. — [49] Wertheimer: Pflügers Arch. 213, 202 (1926). — [50] Krebs, A.: l. c. — [51] Dickens, F., u. Greville, G. D.: l. c. — [52] Braunstein u. Kritzmann: Enzymologia (Nd.) 11, 129 (1937/38).

wird. Der RQ der phlorrhizin-resistenten Atmung, der mit einem Wert von 0,71 erheblich höher als derjenige der Hungeratmung liegt, deutet auf eine Verbrennung von Kh neben Fett hin, für die sich unter denselben Voraussetzungen wie für die Normalatmung ein Anteil von 26% an den Gesamtverbrennungen errechnet. Die absolute Abnahme des aus der Kh-Oxydation stammenden Sauerstoffverbrauchs (TQ_{O_2} Kh (normal) $- TQ_{O_2}$ Kh (Phlorrhizin)) würde dann $\frac{72 : 13{,}2}{100} - \frac{26 \cdot 8{,}8}{100} = 9{,}5 - 2{,}3 = 7{,}2$ betragen, der nur eine Abnahme des Gesamtsauerstoffverbrauchs (TQ_{O_2} normal $- TQ_{O_2}$ Phlorrhizin) von 4,4 gegenübersteht. Also selbst bei Einrechnung eines nicht gehemmten Restes der Kh-Verbrennung von 26% der Gesamtoxydationen bliebe die tatsächlich durch Phlorrhizin bewirkte Atmungshemmung noch hinter der aus der Kh-Bilanz errechneten O_2-Abnahme zurück. Offenbar sieht sich die Kh-reiche Leberzelle durch die starke Hemmung ihrer vorwiegend durch Kh unterhaltenen Verbrennungsprozesse gezwungen, diese zur Aufrechterhaltung ihres Stoffwechsels durch die Heranziehung anderer Brennstoffe wie Fett bzw. Eiweiß teilweise zu kompensieren. Die Hemmung der Gesamtatmung durch Phlorrhizin kann daher in der Kh-reichen Leber kein Maß für die tatsächliche Hemmung der Kh-Verbrennung sein. Auch über die Größe des phlorrhizin-resistenten Anteils der Kh-Oxydation sind sichere Angaben nicht möglich. Der dafür errechnete Betrag von 26% gilt nur unter den eingangs erwähnten Voraussetzungen, die nicht bewiesen werden können.

Würde man den für die phlorrhizin-vergiftete Atmung gefundenen RQ auf eine gemischte Verbrennung von Fett und Eiweiß beziehen, so müßte sich dieses mit einem Anteil von 60% an den Verbrennungen beteiligen. Bei dem nicht sehr großen Desaminierungsvermögen der Leber ist diese Annahme sehr unwahrscheinlich. Auch Umaminierungen in so erheblichem Ausmaße anzunehmen, dürfte auf Schwierigkeiten stoßen, da für die Aufnahme von Aminogruppen aus den abbaufähigen Aminosäuren wohl schwerlich so viele Akzeptoren, die praktisch nur aus dem Fettabbau stammen könnten, zur Verfügung stehen.

c) Fetternährte Tiere.

Für die Beurteilung der Oxydationen in der Fettleber haben wir mit denselben Schwierigkeiten zu rechnen wie in der kh-reichen Leber. Die RQ der Normalatmung wurden auffallend hoch gefunden (0,77). Die Schwankungen der Einzelwerte sind größer als bei den anderen Ernährungsgruppen und hängen vielleicht mit dem sehr verschiedenen Verfettungsgrad der Leberläppchen zusammen. Nur in einem Fall (Nr. 906) wurden so tiefe Werte (0,55) wie bei Gemmill und Holmes[53] gefunden. Geht man für

[53] Gemmill, C. L., u. E. G. Holmes: l. c.

die Berechnung des Anteils der Kh an den Gesamtverbrennungen wieder von denselben Voraussetzungen aus wie bei den kh-reich ernährten Tieren, so errechnet sich ein Wert von 54%.

Die unter Phlorrhizin gemessenen Atemwerte zeigen eine ganz auffallende Übereinstimmung mit den für die Kh-Leber gefundenen, so daß auch der Anteil der Kh an der phlorrhizin-resistenten Atmung der gleiche ist (26%). Berechnet man aus beiden Werten auch hier wieder die absolute Abnahme des aus der Kh-Verbrennung stammenden Sauerstoffverbrauchs, so zeigt auch dieser eine Differenz gegenüber der Abnahme des Gesamtsauerstoffverbrauchs, die allerdings wesentlich kleiner ist als bei den kohlehydraternährten Tieren. Es ist also auch hier anzunehmen, daß die Hemmung der Kh-Verbrennung durch andere Oxydationsprozesse teilweise ausgeglichen wird.

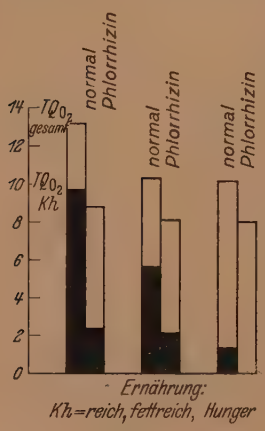


Abb. 2.

Von denselben Erwägungen ausgehend wie bei den Hungertieren wurde in einer weiteren Versuchsreihe die Wirkung von Glucose auf die Atmung untersucht. Dabei zeigte sich im Gegensatz zu den Hungertieren eine deutliche Atmungssteigerung (10%), die auffallenderweise durch Phlorrhizin nicht gehemmt wurde. Aus dem deutlichen Anstieg der RQ geht hervor, daß ein Teil der Glucose verbrannt wird.

Fassen wir die Ergebnisse der Phlorrhizinwirkung bei den verschiedenen Ernährungsgruppen zusammen, so ergibt sich folgendes Bild (s. Abb. 2). Phlorrhizin greift vorwiegend hemmend in die Verbrennungsprozesse der Kohlehydrate ein. Ist deren Anteil an den Verbrennungen groß, wie in der glykogenreichen Leber, so ist auch die Hemmung der Gesamtatmung größer. Sie erreicht aber nicht das Ausmaß, das nach der Hemmung des auf die Kh-Verbrennung entfallenden Sauerstoffverbrauchs zu erwarten wäre. Die phlorrhizinvergiftete Leber besitzt daher die Fähigkeit, bei einem größeren Ausfall von Oxydationsenergie ihre Verbrennungen auf andere Zellstoffe umzustellen. Ist der Anteil der Kohlehydrate an den Verbrennungen nur gering wie bei der Hungerleber, so kann Phlorrhizin auch andere Oxydationsprozesse, wahrscheinlich die des Fettes, hemmen. Nur in der Hungerleber ist die Hemmung der Kh-Oxydation eine vollständige. In der glykogenreicheren Leber der kohlehydrat- und fetternährten Tiere bleibt ein nicht genau festzulegender Betrag ungehemmt. Daß die Leber die Fähigkeit besitzt, Zucker glykolytisch zu spalten, dürfte heute wohl außer Frage stehen. Das Ausmaß der glykolytischen Spaltung wird dabei, wie wir eingangs gesehen haben, immer durch ihren Glykogengehalt bestimmt, der wieder, was häufig zu wenig beachtet wurde, von der Vorernährung der Versuchstiere entscheidend abhängt. Die hohen Glykolyse-

werte, die bei kh-reich ernährten Ratten gefunden wurden, stehen jedenfalls denen anderer Organe mit vorwiegendem Kh-Umsatz (Muskel, Hirn) kaum nach und machen es wahrscheinlich, daß die Endoxydation der Kohlehydrate auch in der Leber erst an ihren anoxybiontischen Spaltprodukten ansetzt. Die Hemmung der Phosphorylose des Glykogens, die die Spaltung einleitet, muß daher in gleicher Weise die Bildung der abbaufähigen C_3-Körper als auch deren weitere totale Oxydation treffen. Da Lundsgaard[54] die Veresterung von Glucose mit Phosphat in m/200 Phlorrhizinlösungen nur bis zu 80% hemmen konnte, ist es am wahrscheinlichsten, daß der ungehemmte Rest der Kh-Verbrennung in unseren Versuchen auf eine unvollständige Hemmung der Phosphorylose des Glykogens zurückzuführen ist. Eine andere Deutung könnte in der Annahme eines „phosphatlosen" Abbauweges der Kohlehydrate in der Leber gesehen werden, der nach neuen Untersuchungen vorwiegend in den Geweben mit direktem Glucoseangriff (Hirn, Retina) vorhanden sein soll. Für sein Vorkommen in der Leber könnten unsere Versuche mit Glucosezusatz (fetternährte Tiere) sprechen, die einen deutlichen Anstieg des RQ zeigten, der durch Phlorrhizin nicht gesenkt werden konnte.

II. Einfluß der Phlorrhizinkonzentration auf die Leberatmung.

Beobachtungen von Lundsgaard[55], daß Jodessigsäure die Milchsäurebildung im Muskel völlig hemmt, ohne daß die Atmung wesentlich beeinflußt wird, legten die Frage nahe, ob die von uns beobachtete Atmungshemmung überhaupt etwas mit der spez. Hemmung der Phosphorylierung des Glykogens zu tun hat. Für Phlorrhizin lag ein ähnlicher Befund von Goda[56] vor, der die über Phosphorylierungsprozesse verlaufende Umesterung von Fructose in Glucose in der Rattenleber untersuchte und dabei fand, daß diese durch geringe Phlorrhizinkonzentration (m/1000) bereits gehemmt wird, die die Atmung noch unbeeinflußt lassen. Wir sahen uns deshalb veranlaßt, bei einer Reihe von kh-reich ernährten Tieren (970—984) die Wirkung von m/2000 Phlorrhizinkonzentraten zusätzlich zu messen, um festzustellen, ob sich eine Beeinflussung der RQ im Sinne einer Hemmung der Kh-Verbrennung ohne gleichzeitige Hemmung der Gesamtatmung erzielen läßt. Wie aus den in Tabelle 3 mitgeteilten Werten hervorgeht, ist dies nicht der Fall. In allen Versuchen war eine etwa 20%ige Hemmung der Sauerstoffzehrung nachweisbar, die mit einer deutlichen Senkung der RQ verbunden war. Durch Steigerung der Phlorrhizinkonzentration auf m/1000 nahm die Atmung um weitere 12% ab, bei gleichzeitiger Senkung des RQ auf 0,70. Aus diesen Versuchen geht somit eindeutig hervor, daß der Sauerstoffverbrauch mit zunehmender Hemmung der Kh-Oxydation absinkt. Wir haben diese Versuche absicht-

[54] Lundsgaard, E.: Biochem. Z. **264**, 209, 221 (1933). — [55] Lundsgaard, E.: Ebenda **217**, 162; **227**, 51 (1930). — [56] Goda, F.: Ebenda **294**, 259 (1937)

Tabelle 3. Einfluß der Phlorrhizinkonzentration auf die Leberatmung in phosphatgepuffertem Serum.

Tier Nr.	Art der Vorbehandlung	Zusätze zum Serum	TQ_{O_2}	TQ_{CO_2}	RQ	Hemmung der Atmung durch Phlorrhizin in % der N. A.*
970	Kh-reich ernährt	—	13,2	12,0	0,91	—
		Phlorrhizin (m/2000)	10,3	8,0	0,78	22
		„ (m/1000)	8,7	6,2	0,71	34
971	Dasselbe	—	13,4	12,2	0,91	—
		„ (m/2000)	10,5	—	—	22
		„ (m/1000)	8,9	6,1	0,69	34
974	„	—	13,3	11,9	0,90	—
		„ (m/2000)	10,5	8,3	0,79	21
		„ (m/1000)	9,0	6,5	0,72	32
975	„	—	13,0	11,9	0,92	—
		„ (m/2000)	10,1	7,9	0,78	22
		„ (m/1000)	8,9	6,2	0,70	32
984	„	—	12,9	10,5	0,81	—
		„ (m/2000)	10,3	7,8	0,76	20
		„ (m/1000)	8,5	5,9	0,65	34
Mittelwerte		Normalatmung:	**13,2**	**11,7**	**0,89**	
		Phlorrhizin (m/2000)	**10,4**	**7,8**	**0,78**	**21**
		„ (m/1000)	**8,8**	**6,2**	**0,70**	**33**

* N. A. = Normalatmung.

lich nur an kh-reich ernährten Tieren durchgeführt, da nur bei diesen ein entsprechend großer Kh-Umsatz vorhanden ist, und halten es für wahrscheinlich, daß die negativen Resultate anderer Autoren auf eine weniger Kh-reiche Vorernährung ihrer Versuchstiere zurückzuführen ist, die gerade bei Versuchen an Leberschnitten von ausschlaggebender Bedeutung ist.

III. Wirkung des Phlorrhizins auf die cyan-resistente Restatmung der Leber.

Seit der Entdeckung des „alten" gelben Ferments durch Warburg ist die Frage, ob es eine cyan-resistente Restatmung gibt, in positivem Sinne entschieden worden. Warburg[57] selbst bestritt anfangs jeden Versuch, die Bedeutung der strukturgebundenen Atmung, die bekanntlich durch Aktivierung von molekularem Sauerstoff am Eisen des Fermenthämins erfolgen soll, zugunsten anderer eisenfreier oder nicht cyanhemmbarer Oxydationen einzuschränken. Von Dixon und Elliot[58] stammen die ersten genauen Angaben über cyan-resistente Atmungsreste, die in verschiedenen Geweben sehr hoch, so in der Leber bis zu 35 % gefunden wurden. Alt[59] hat ihre Befunde zwar für ihre Versuchsbedingungen

[57] Warburg, O.: Biochem. Z. **231**, 493 (1931). — [58] Dixon, M., u. K. A. C. Elliot: l. c. — [59] Alt, H. L.: l. c.

(Atmung in Phosphatringer) bestätigen können, gleichzeitig aber zeigen können, daß dieselben Gewebe nur einen sehr geringen, praktisch zu vernachlässigenden cyan-resistenten Atmungsrest aufweisen, wenn man sie in Carbonatringer und bei einem Kohlensäurepartialdruck von 0,05 Atm. untersucht. In m/500 HCN-Konzentrationen wurde beispielsweise für die Leber von Ratten eine Restatmung von 13 %, in m/100 Konzentrationen von nur 2 % gefunden. Kisch [60] hat den Einfluß des Milieus dann nochmals ausführlicher untersucht, wobei er von der Beobachtung ausging, daß Phosphat die Atmung mancher Gewebe günstig beeinflußt. Er fand für verschiedene Gewebe große Unterschiede sowohl hinsichtlich der Größe der Restatmung, als auch bezüglich ihres Verhaltens den beiden Medien gegenüber. Für die cyan-resistente Leberrestatmung wurden sowohl in Phosphatringer als auch in Carbonatringer Werte von 43 % bei m/1000 und von 12 % bei m/100 KCN-Konzentration gefunden, also wesentlich höhere Werte als die von Alt gemessenen. Weitere Untersuchungen stammen von Torres [61] mit 93 % Hemmungen durch m/200 Cyanidlösungen.

Schwierig zu beantworten ist die Frage nach den Donatoren der cyanresistenten Atmung. Dabei muß zunächst berücksichtigt werden, daß diese nicht ganz identisch ist mit der sogenannten „Nebenatmung", d. h. mit den Oxydationen, die nicht über das Fermenthämin verlaufen, aber cyanhemmbar sind. So sind von den Fermenten der Nebenatmung die eisenhaltige Uricase und einige Peroxydasen, die direkt mit Sauerstoff reagieren, cyan-hemmbar, während die oxydative Desaminierung der d-Aminosäuren und wahrscheinlich die ω-Oxydation gesättigter Fettsäureketten durch Blausäure nicht beeinflußt werden [62]. Alle anderen Prozesse, also der gesamte oxybiontische Abbau der Zucker, der Fettsäuren und der l-Aminosäuren, gehören zur Hauptatmung, wobei wir uns vorzustellen haben, daß nicht die Substrate selbst am Fermenthämin oxydiert werden, sondern nur der aus ihnen durch das System der Dehydrasen aktivierte Wasserstoff, der über eine Reihe von Zwischenkatalysatoren zu den Cytochromen und schließlich an das Fermenthämin zur endgültigen Oxydation weitergegeben wird. Einer dieser Zwischenkatalysatoren ist das „alte" gelbe Ferment, das jedoch trotz seiner autoxydablen Eigenschaften in der normalen Zellatmung nicht die Rolle eines „Sauerstoffaktivators" spielen dürfte, da die Geschwindigkeit der Sauerstoffhydrierung an derjenigen des Hämins gemessen eine viel zu geringe ist. Lediglich bei der Restatmung vermag es infolge seiner Blausäureresistenz wie eine echte Oxydase zu wirken, d. h. den ihm zufließenden Wasserstoff direkt zu oxydieren.

Wegen der Bedeutung der verschiedenen Donatoren für die Größe der Restatmung, auf die Kisch hingewiesen hat, haben wir diese in Ab-

[60] Kisch, B.: Biochem. Z. **293**, 75 (1937); **257**, 95 (1933). — [61] Torres, I.: Ebenda **280**, 114 (1935). — [62] Oppenheimer: Die Fermente. Suppl. IX, S. 1263 (1939).

Tabelle 4. Cyan-resistente Leberatmung in phosphatgepuffertem Serum in Abhängigkeit vom Ernährungszustand und ihre Beeinflussung durch Phlorrhizin.

Tier Nr.	Art der Vorbehandlung	Normal			KCN (m/1000)			Restatmung in % der N. A.		KCN (m/1000) + Phlorrhizin (m/1000)			Restatmung *		Bemerkungen
		TQ_{O_2}	TQ_{CO_2}	RQ	TQ_{O_2}	TQ_{CO_2}	RQ	O_2	CO_2	TQ_{O_2}	TQ_{CO_2}	RQ	O_2	CO_2	
930	5 Tage Hunger	10,0	5,1	0,51	1,5	1,9	1,3	15 %	37 %	1,5	1,8	1,2	15 %	35 %	
956	5 „ „	10,4	6,6	0,63	1,8	1,8	1,0	17 %	27 %	1,7	1,7	1,0	16 %	26 %	
957	6 „ „	9,2	6,1	0,66	1,7	1,7	1,0	18 %	28 %	1,5	1,8	1,2	16 %	29 %	
967	5 „ „	10,0	5,6	0,56	1,5	1,8	1,2	15 %	32 %	1,4	1,8	1,3	14 %	32 %	
972	6 „ „	10,0	6,8	0,68	1,6	2,1	1,3	16 %	31 %	1,4	1,6	1,1	14 %	24 %	
973	5 „ „	9,8	7,0	0,71	1,7	1,8	1,1	17 %	26 %	1,5	1,3	0,9	15 %	19 %	
	Mittelwerte:	9,9	6,2	0,63	1,6	1,9	1,2	16 %	30 %	1,5	1,7	1,1	15 %	28 %	
931	Fettreich ernährt	11,3	7,9	0,70	1,8	1,9	1,1	16 %	24 %	1,4	1,5	1,1	12 %	19 %	Leber ziemlich fett
936	Dasselbe	10,4	8,2	0,79	1,6	2,3	1,4	15 %	28 %	1,3	1,6	1,2	13 %	20 %	„ sehr fett
942	„	10,3	8,1	0,79	1,7	1,7	1,0	17 %	21 %	1,3	2,1	1,6	13 %	26 %	„ fett
958	„	10,5	8,1	0,77	1,7	3,1	1,8	16 %	38 %	1,3	2,7	2,1	12 %	33 %	„ „
963	„	11,3	8,4	0,74	1,8	1,5	0,8	16 %	18 %	1,4	1,6	1,1	12 %	19 %	„ ziemlich fett
964	„	10,1	7,6	0,75	1,7	1,7	1,0	17 %	22 %	1,2	1,7	1,4	12 %	22 %	„ nur teilw. verfettet
	Mittelwerte:	10,7	8,1	0,76	1,7	2,0	1,2	16 %	25 %	1,3	1,9	1,5	12 %	23 %	
939	Kh-reich ernährt	13,0	10,3	0,79	1,6	2,2	1,4	12 %	21 %	—	—	—	—	—	
949	Dasselbe	13,0	9,2	0,71	1,6	2,1	1,3	12 %	23 %	1,3	1,9	1,5	10 %	21 %	
953	„	13,1	11,8	0,90	1,6	2,7	1,7	12 %	23 %	1,2	2,0	1,7	9 %	17 %	
954	„	13,0	12,2	0,94	1,6	4,1	2,6	12 %	34 %	1,4	3,9	2,8	11 %	32 %	
955	„	13,0	11,7	0,90	1,6	2,2	1,4	12 %	19 %	1,4	2,1	1,5	11 %	18 %	
	Mittelwerte:	13,0	11,0	0,85	1,6	2,7	1,7	12 %	24 %	1,3	2,5	1,9	10 %	22 %	
1017	Eiweißreich ernährt	12,1	11,0	0,91	1,5	1,6	1,1	12 %	15 %	1,6	1,4	0,9	13 %	13 %	
1021	Dasselbe	13,0	11,8	0,91	1,5	1,4	0,9	12 %	12 %	1,4	1,3	0,9	11 %	11 %	
1022	„	13,1	11,8	0,90	1,6	1,8	1,1	12 %	15 %	1,4	1,9	1,4	11 %	16 %	
	Mittelwerte:	12,7	11,5	0,91	1,5	1,6	1,0	12 %	14 %	1,5	1,5	1,0	12 %	13 %	

* Restatmung (KCN + Phlorrhizin) bezogen auf Normalatmung.

hängigkeit vom Ernährungszustand untersucht. Für sämtliche Versuche wurden m/1000 KCN-Konzentrationen angewandt. Es wurde besondere Sorgfalt auf das Anfertigen der Schnitte gelegt, da alle Schädigungen derselben die Restatmung steigern. Die Größe der Blausäurehemmung schwankte in unseren Versuchen zwischen 84 und 88%, also entsprechend den Werten von Alt bei m/500 Konzentrationen. Die kleinste prozentuale Restatmung wurde wider Erwarten bei den kh- und den eiweißernährten Ratten gefunden. Diese erklärt sich jedoch nur durch ihre höhere Normalatmung. Die Absolutwerte liegen nahezu für sämtliche Ernährungsgruppen auf gleicher Höhe. Es scheint uns deshalb unzweckmäßig, die prozentische Größe der Restatmung in Bezug auf die Normalatmung zu Vergleichen heranzuziehen, wie das immer geschieht. Bei sehr verschieden hohen Normalatemwerten können so bei gleichen cyan-resistenten Atemwerten ganz verschieden hohe prozentuale Hemmungen zustande kommen. So erklären sich unseres Erachtens die hohen Werte von Dixon und Elliot[63] teilweise durch ihre auffallend niederen Normalatemwerte. Ihre Restatemwerte sind absolut genommen nicht wesentlich höher als die anderer Autoren. Die atmungsschädigende Wirkung des Phosphats erstreckt sich daher in erster Linie auf die Hauptatmung und nicht, wie Warburg annimmt, auf die Restatmung selbst.

In Tabelle 5 haben wir den in Serum gemessenen Werten die früher in Phosphatringer bestimmten[64] gegenübergestellt. Dabei fällt auf, daß die TQ_{O_2}-Werte der Restatmung in Phosphatringer durchweg tiefer liegen als in Serum und größere Schwankungen in Abhängigkeit vom Ernährungszustand zeigen. Die höchsten Absolutwerte in Phosphatringer weisen die kh-ernährten Tiere auf. Es wäre daher denkbar, daß die in Serum gefundenen höheren Atemwerte teilweise dem Einfluß der Serumkohlehydrate zuzuschreiben sind.

Tabelle 5. Mittelwerte der cyan-vergifteten Restatmung in Phosphatringer und Serum.

Art der Vorbehandlung	Phosphatringer + KCN		Serum + KCN	
	TQ_{O_2}	RQ	TQ_{O_2}	RQ
Hungertiere	0,8	2,5	1,6	1,2
Fettreich ernährt	0,8	3,1	1,7	1,2
Kh-reich ernährt	1,1	2,0	1,6	1,7
Eiweißreich ernährt	0,9	1,5	1,5	1,0

Die RQ liegen auch im Serum größtenteils weit über 1,0. Es bestätigt sich damit unsere früher ausgesprochene Vermutung[64], daß ein Teil der Prozesse im Abbau der Kohlehydrate, die zur Bildung von CO_2 durch Decarboxylierung von Carbonsäuren führen, durch Blausäure nicht ge-

[63] Dixon, M., u. K. A. C. Elliot: l. c. — [64] Wetzel, R., u. R. v. Zitzewitz: l. c.

hemmt werden. Wo diese zu suchen sind, ist noch unklar. Für Brenztraubensäure, die in erster Linie als Donator für die Atmungskohlensäure in Frage kommt, ist eine rein carboxylatische CO_2-Abspaltung unwahrscheinlich. Wahrscheinlicher ist die von Krebs[65] aufgefundene Dismutation von 2 Mol Brenztraubensäure zu Essigsäure, Milchsäure und CO_2:

$$CH_3 \cdot CO \cdot COOH + CH_3 \cdot CO \cdot COOH + H_2O \rightarrow CH_3 \cdot COOH + CO_2 + CH_3 \cdot CHOH \cdot COOH.$$

Die Bildung von Extrakohlensäure auf diesem Wege setzt natürlich voraus, daß Brenztraubensäure oder ihre Vorstufen in genügender Menge vorhanden sind oder auch bei fehlender Oxybiose entstehen, was bei der starken Glykolyse in Blausäure wahrscheinlich ist. Dementsprechend fanden wir auch die höchsten CO_2-Werte in der glykogenreichen Leber.

Die RQ der Restatmung können uns daher keinen Aufschluß darüber geben, welche Donatoren die Atmung bestreiten. Lediglich aus den höheren Atemwerten der in Phosphatringer gemessenen Restatmung der kh- und eiweißernährten Tiere kann vermutet werden, daß entsprechend der Kenntnis der Fermentsysteme der Nebenatmung in erster Linie Kohlehydrate und Aminosäuren hierfür in Frage kommen.

Die Versuche mit kombinierter HCN- und Phlorrhizinwirkung haben nur einen geringen hemmenden Einfluß des Phlorrhizins ergeben. Bei den kohlehydrat- und den fetternährten Tieren beträgt die Hemmung rund 20% der Restatmung, bei den Hunger- und den eiweißernährten Tieren ist sie noch geringer. Man könnte daraus schließen, daß der Abbau der Kh in der cyan-vergifteten Leber nur zum kleineren Teil den Weg über die Phosphorylose des Glykogens geht, da diese ja durch Phlorrhizin gehemmt wird. Wenn man aber annimmt, daß die Oxydation der Kohlehydrate über das System Codehydrase—Zwischenferment—Gelbes Ferment verläuft, das nur mit Hexosediphosphat als Donator wirkt, ist schwer einzusehen, wie diese ohne eine Phosphorylierung der Kh vor sich gehen soll, es sei denn, daß eine genügende Menge von phosphorylierter Hexose vorgebildet ist, die die geringe Atmung über das gelbe Ferment unterhalten könnte. Andererseits ist denkbar, daß der größere Teil der Restatmung durch die Oxydation von d-Aminosäuren, die bekanntlich cyan-resistent sind, bestritten wird.

B. Fermentversuche.

W. Fleischmann[66] hat die Ansicht vertreten, daß Phlorrhizin infolge seiner stark oberflächenaktiven Eigenschaften der Glucose durch Blockierung der äußeren Zelloberflächen den Zutritt zu den Oxydationsorten der Zelle verwehrt. Dieser Annahme widersprechen unsere eigenen Versuche an glykogenreichen Leberschnitten, die auch ohne Zusatz von

[65] Krebs, H. A.: Nature **138**, 288 (1936); Biochem. J. (Brit.) **31**, 661 (1937).
[66] Fleischmann, W.: l. c.

Glucose eine starke Phlorrhizinwirkung auf die Verbrennung der zelleigenen Kh erkennen ließen, die nur an den Reaktionsorten selbst, also im Innern der Zelle erfolgen kann. Andererseits kann wohl kein Zweifel darüber bestehen, daß Phlorrhizin bestimmte Fermentreaktionen hemmt, also ein spez. hemmendes Zellgift ist. Nun wurde aber neben dieser spezifischen Wirkung auf die Kh-Verbrennung noch ein hemmender Einfluß auf andere Oxydationsprozesse gefunden, so daß wir uns fragten, ob Phlorrhizin auf Grund der von Fleischmann angenommenen stark oberflächenaktiven Eigenschaften nicht noch eine allgemein hemmende Wirkung auf die Zellatmung, ähnlich derjenigen der Narkotica, zukommt. Es wurde deshalb die Wirkung des Phlorrhizins auf zwei Fermente untersucht, und zwar auf die d-Aminosäureoxydase und das „alte" gelbe Ferment.

a) d-Aminosäureoxydase.

Die Darstellung des Ferments wurde nach O. Warburg und W. Christian[67] vorgenommen. Die Leber und Nieren der Tiere (Hund, Ratte) wurden sofort nach dem Herausnehmen aus dem Tierkörper in der Latapiemühle zerkleinert, mehrmals mit Aceton bis zur Entwässerung verrieben und im Vakuum über P_2O_5 getrocknet. Zur Herstellung der Extrakte wurde 1 g trockenes Organpulver mit 20 ccm Wasser und Seesand gründlich zerrieben und hochtourig (15000) zentrifugiert. Die klare gelbe Lösung wurde mit d, l-Alanin nach Warburg manometrisch ausgetestet.

Hauptraum: 0,5 ccm Fermentlösung, 0,5 ccm dest. H_2O, 1 ccm Phosphatpuffer nach Sørensen ($p_H = 7{,}4$).

Anhang: 0,2 ccm 4,5% d, l-Alanin.

Im Einsatz: 3% KOH in Filtrierpapierstreifen, im Gasraum Luft.

In den Ansätzen mit Phlorrhizin wurde dieses in solchen Mengen zu den Puffergemischen gegeben, daß nach dem Einkippen der Alaninlösung eine m/200 bzw. m/400 Phlorrhizinkonzentration in der Gesamtlösung vorhanden war. Wie aus den in Tabelle 6 verzeichneten Werten hervorgeht, übt Phlorrhizin weder in m/400 noch in m/200 Konzentrationen einen hemmenden Einfluß auf die Oxydation des d, l-Alanins aus.

Tabelle 6. cmm O_2/Stunde für 0,1 g Rohferment.

Präparat	Normal	m/200 Phlorrhizin	m/400 Phlorrhizin
Hundeniere	156	151	
Schakalniere	134	126	
Hundeniere	192	188	188
„	171	173	171
„	260	252	

[67] Warburg, O., u. W. Christian: Biochem. Z. **298**, 150 (1938).

b) „Altes" gelbes Ferment.

Die Wirkung des Ferments wurde in dem von O. Warburg[68] angegebenen System mit Neuberg-Ester, Zwischenferment aus Hefe und Codehydrase I manometrisch bestimmt.

Das „alte" gelbe Ferment und die Codehydrase wurden mir von Herrn Professor R. Kuhn und Herrn Dr. Birkofer freundlicherweise zur Verfügung gestellt, wofür ich an dieser Stelle herzlich danke.

Das Zwischenferment wurde nach dem von O. Warburg und W. Christian[69] angegebenen Arbeitsverfahren dargestellt.

Hauptraum: 0,5 ccm Fermentlösung, 0,5 ccm Neuberg-Ester, 0,6 ccm m/15 Phosphatpuffer nach Sørensen ($p_H = 7{,}5$), 0,3 ccm Zwischenferment.

Anhang: 0,3 ccm Codehydraselösung.

In den Ansätzen mit Phlorrhizin wurde dieses in fester Form dem Phosphatpuffergemisch und der Lösung des Neuberg-Esters in solchen Mengen zugesetzt, daß im Reaktionsgemisch jeweils m/200, m/400 und m/1000 Konzentrationen resultierten. Wie aus den in Tabelle 7 verzeichneten Werten hervorgeht, ruft Phlorrhizin eine deutlich hemmende Wirkung auf die Oxydation von Neuberg-Ester durch gelbes Ferment hervor, die mit steigender Phlorrhizinkonzentration größer wird.

Tabelle 7. cmm O_2/Stunde.

Normal	Phlorrhizin			Normal	Phlorrhizin		
	m/200	m/400	m/1000		m/200	m/400	m/1000
221	—	165	—	227	150	—	198
222	—	165	—	218	146	—	189
227	—	—	209				

Die beiden Versuche sind in doppelter Hinsicht bemerkenswert. Erstens haben sie erwiesen, daß Phlorrhizin auf zwei Fermente, die sowohl hinsichtlich ihres Proteins als auch ihrer Wirkungsgruppe sehr ähnlich sind, ganz verschiedene Wirkungen ausübt. Der hemmende Einfluß auf das System des „alten" gelben Ferments ist daher sicher keine allgemeine Oberflächenwirkung, wie wir sie von den Narkotica her kennen. Wäre das der Fall, so müßte sich dieselbe Wirkung auch bei der d-Aminosäureoxydase finden. Wir haben es daher sicher, ebenso wie bei der Hemmung der Phosphorylose, mit einer spezifischen Wirkung des Phlorrhizins zu tun, die vielleicht in Beziehung steht zu der Rolle des „alten" gelben Ferments im Kohlehydratabbau. Auch die Gewebeversuche mit Blausäure und Phlorrhizin sprechen gegen eine narkotische Wirkung des letzteren. Warburg[70] hat früher an der Atmung von Seeigeleiern und roten Blutkörperchen

[68] Warburg, O., u. W. Christian: Biochem. Z. **266**, 377 (1933). — [69] Warburg, O., u. W. Christian: l. c. — [70] Warburg, O.: Erg. Physiol. usw. **14**, 253 (1914).

zeigen können, daß Narkotica die Wirkung der Blausäure stark herabsetzen können. Er führte diesen Effekt auf eine Verdrängung der Blausäure durch die stärker oberflächenaktiven Stoffe zurück, deren Wirkung um so stärker war, je stärker sie adsorbiert wurden. Da Phlorrhizin in unseren Versuchen mit Blausäure den hemmenden Einfluß derselben eher verstärkte, ist auch aus diesem Grunde eine rein adsorptive Wirkung auf die Zelloberflächen abzulehnen.

Die von Fleischmann angeführten Versuche können nicht als beweisend angesehen werden. Wir können zwar seine Angaben bestätigen, daß Phlorrhizin von Hefe und Tierkohle adsorbiert wird, wenn man es in Lösung mit Trockenhefe und Tierkohle schüttelt. Denselben Effekt kann man aber auch mit Lösungen von Phloroglucin erhalten, das bekanntlich keine glykosurischen Wirkungen hervorruft. Von einer Erniedrigung der Oberflächenspannung von Phlorrhizinlösungen gegenüber Wasser, wie sie Fleischmann angibt, vermochten wir uns ebenfalls nicht zu überzeugen. Es wurde zu diesem Zweck die Oberflächenspannung von m/500 und m/5000 Phlorrhizinlösungen mit dem Traubeschen Stalagmometer gemessen, die, wie aus den in Tabelle 8 verzeichneten Werten hervorgeht, innerhalb der Fehlergrenze mit derjenigen von reinstem Wasser übereinstimmt.

Tabelle 8.

	Wasser	Phlorrhizin	
		m/500	m/5000
Tropfenzahl	54,4	54,3	54,5
	54,5	54,7	54,6

Die Fermentversuche lassen aber vielleicht noch eine andere Deutung der Wirkung des Phlorrhizins auf die Zellatmung zu. Wenn dieses an irgendeiner Stelle zwischen Dehydrasensystem und Atmungsferment, sei es am „alten" gelben Ferment, sei es an einem der anderen Zwischenakzeptoren der Hauptatmung, angreift, so könnte dadurch die Weitergabe des aktivierten Wasserstoffs an den Ort seiner endgültigen Oxydation erschwert werden. Im Endeffekt würde auch dann eine Hemmung des Sauerstoffverbrauchs zustande kommen, die sich auf alle Dehydrierungen erstrecken könnte, sowohl auf die der Kohlehydrate als auch auf die des Fettes und des Eiweißes.

Wir würden dann mit zwei Wirkungen des Phlorrhizins zu rechnen haben, einer in bezug auf die Donatoren unspezifischen, die, nach den Versuchen am System des „alten" gelben Ferments zu schließen, entweder an diesem selbst oder an anderen Zwischenakzeptoren angreift, und einer spezifischen, die den Abbau der Kh durch die Hemmung der Phosphorylose des Glykogens unterbindet. Wie sich beide auf die Zellatmung auswirken, wird von der Stoffwechsellage der Leberzellen bzw. von ihren Umsetzungen

abhängen. Für die Verbrennung von Fett, über deren spezifische Beeinflussung durch Phlorrhizin uns nähere Anhaltspunkte fehlen, wird in erster Linie die unspezifische Hemmung der Atmung anzunehmen sein, bei der also nur die Weitergabe des aktivierten Wasserstoffs an die Oxydationsorte der Zelle gestört ist. In der kh-reichen Leber wird diese Wirkung des Phlorrhizins hinter der spezifischen Wirkung auf die Phosphorylose des Glykogens zurücktreten, die bewirkt, daß überhaupt keine abbaufähigen Zucker entstehen. Der Ausfall an Wasserstoff, der zu einer Einschränkung der Endoxydationen führt, wird dann allein durch die fehlende oder stark eingeschränkte Dehydrierung der Kh bedingt. So wird auch verständlich, warum die Atmungshemmung in der glykogenreichen Leber erheblich größer gefunden wurde als in der Hunger- und Fettleber, in der die Verbrennung des Fettes überwiegt.

Zusammenfassung.

1. Die Vorernährung der Versuchstiere (weiße Ratten) beeinflußt die Stoffwechsellage der Leber weitgehend. Die bei einseitiger Ernährung überwiegend dargereichten Nahrungsstoffe erscheinen auch bevorzugt in den Verbrennungsprozessen der Leberzellen. Die großen Unterschiede der respiratorischen Quotienten der Leberatmung sind daher in erster Linie ernährungsbedingt.

2. Die RQ der Leberatmung von 5—6 Tage hungernden Ratten liegen auch in Serum nicht höher als in Phosphatringer und erheblich tiefer als bei ausschließlicher Verbrennung von Fett, bei dessen vollständiger Oxydation zu CO_2 und H_2O zu erwarten wäre.

3. Aus der phlorrhizin-vergifteten Leberatmung von Hungerratten, die ausschließlich durch die Verbrennung von Fett bestritten wird, leitet sich ein RQ von 0,55 ab, der in sehr guter Übereinstimmung zu dem von Jowell und Quastel aus der Acetonkörperbildung indirekt berechneten Wert für die ausschließliche Verbrennung von Fett in Leberschnitten steht.

4. Phlorrhizin setzt auch in Serum die Leberatmung um 20—35 % herab, wobei die Verbrennung der Kh je nach ihrem Anteil an den Gesamtverbrennungen mehr oder weniger vollständig gehemmt wird.

5. Die Hemmung der Gesamtatmung ist in der Leber von Hungertieren größer als dem Anteil der Kh an den Gesamtverbrennungen entspricht, so daß angenommen werden muß, daß auch die Verbrennung anderer Zellstoffe, wahrscheinlich die des Fettes, mitgehemmt wird. Bei den fett- und kh-reich ernährten Tieren ist die Hemmung der Kh-Verbrennung keine vollständige. Für den unbeeinflußten Rest wird eine nicht vollständige Hemmung der Phosphorylose des Glykogens angenommen, die nach den Fermentversuchen Lundsgaards am wahrscheinlichsten ist. In zweiter Linie ist dafür ein phosphatloser Abbauweg der Kh in Erwägung zu ziehen, der durch Phlorrhizin nicht beeinflußt wird.

Der durch die Hemmung der Kh-Verbrennung hervorgerufene starke Ausfall von Oxydationsenergie in der kh-reichen Leber wird teilweise durch die Verbrennung anderer Zellstoffe ausgeglichen.

6. Der von Goda erhobene Befund, daß kleine Phlorrhizinkonzentrationen die Veratmung von Kh hemmen ohne gleichzeitige Herabsetzung der Atmung, kann nicht bestätigt werden.

7. Die cyan-resistente Atmung liegt in Serum ebenso wie die Hauptatmung höher als in Phosphatringer. Ihr Anteil an der Gesamtatmung schwankt in Übereinstimmung mit anderen Untersuchern zwischen 10 und 15%. Der RQ der cyan-resistenten Atmung, dessen Messung methodisch verbessert wurde, liegt mit wenigen Ausnahmen über 1,0. Er wird durch eine carboxylatische Abspaltung von CO_2, die durch Blausäure nicht hemmbar ist, erklärt.

8. Phlorrhizin hat auf die cyan-resistente Atmung nur einen geringen hemmenden Einfluß.

9. Die Wirkung der d-Aminosäureoxydase auf d, l-Alanin wird durch Phlorrhizin nicht beeinflußt.

10. Auf das System Hexosediphosphat-Codehydrase I—Zwischenferment—„altes" gelbes Ferment übt Phlorrhizin einen deutlich hemmenden Einfluß aus, der in Abhängigkeit von der Konzentration zwischen 10% (m/500) und 30% (m/200) schwankt.

11. Phlorrhizin erhöht die Oberflächenspannung von Wasser nicht.

12. Die Fermentversuche und die Versuche am cyan-vergifteten Gewebe widersprechen der von Fleischmann vertretenen Ansicht einer unspezifischen Oberflächenwirkung des Phlorrhizins. In Verbindung mit den Gewebeversuchen bei Hungertieren lassen sie eine zweite Wirkung des Phlorrhizins auf die Atmung vermuten, die im System der Zwischenakzeptoren zu denken ist. Wird an dieser Stelle die Weitergabe des aktivierten Wasserstoffs an die Oxydationsorte der Zelle erschwert, so kommt es im Endeffekt ebenfalls zu einer Hemmung des Sauerstoffverbrauchs, die sich jedoch im Gegensatz zu der spezifischen Hemmung der Kh-Verbrennung auf alle Dehydrierungen, auch auf die des Fettes und des Eiweißes, erstrecken wird.

Herrn Prof. Dr. R. Kuhn danke ich für sein reges Interesse an meiner Arbeit. Der deutschen Forschungsgemeinschaft und der Firma Knoll A.-G., Ludwigshafen für ihre Unterstützug durch Apparate.

Herr Willi Rottmann hat mich in dankenswerter Weise bei der Ausführung der Messungen unterstützt.

Über eine Vorrichtung zur Erzeugung nebelfreier Dampf-Luftgemische konstanter Zusammensetzung.

Von

Gerhard Böttger*.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 17. Juli 1943.)

Die toxikologische Prüfung von Gasen oder Dämpfen, wie sie besonders der Klärung gewerbehygienischer Fragen dient, führt nur dann zu exakten und völlig reproduzierbaren Ergebnissen, wenn die Gas- oder Dampfkonzentration während des Versuches konstant bleibt. Da ferner nebelhaltige Dämpfe in der Lunge anders absorbiert werden können als nebelfreie, empfiehlt es sich, auch in dieser Hinsicht auf Konstanz der Verhältnisse zu achten, am einfachsten, indem man Nebelteilchen ganz vermeidet.

Die bisher übliche Methode der Herstellung von Dampf-Luftgemischen besteht darin, daß die zu verdampfende Flüssigkeit in einer Waschflasche bei konstanter Temperatur von einem Luftstrom konstanter Geschwindigkeit durchströmt wird. Die so mit Dampf beladene Luft wird dann durch Beimischung eines zweiten Luftstromes auf die gewünschte Dampfkonzentration verdünnt. Dieses Verfahren ist insofern etwas umständlich, als der die Flüssigkeit passierende Luftstrom nicht sofort die gewünschte Dampfkonzentration besitzt, sondern diese erst durch Beimischung eines zweiten Luftstromes erhält, die einen zusätzlichen Aufwand an Apparaturen wie Gebläsen, Geschwindigkeitsmessern und Mischkugeln erfordert. Ferner besitzt der so erzeugte Dampf-Luftstrom Nebelteilchen, die außer in dem oben erwähnten Sinne dadurch stören können, daß sie sich im Laufe der Zeit an den Wandungen der Leitung niederschlagen und durch diese Vergrößerung der Flüssigkeitsoberfläche ein ständiges Anwachsen der Dampfkonzentration bedingen. Diesen Übelstand kann man auch durch Abfangen der Nebelteilchen durch ein Schwebstoffilter nicht gänzlich beseitigen.

Im folgenden soll eine Apparatur beschrieben werden, die ohne die erwähnten Mängel ist und deren wir uns bei verschiedenen Untersuchungen mit Erfolg bedienten.

Der Apparat (Abb. 1) besteht zweckmäßig aus Glas oder Quarz. In das Vorratsgefäß, in dem sich die zu verdampfende Flüssigkeit befindet,

---

* Unter Mitwirkung von Kurt Moldsen.

taucht, mit der Basis der Schliffhülse S_1 fest verbunden, das Eintauchrohr, ebenso ein durch die Schliffhülse S_4 eingeführtes kleines Thermometer. Auf die Schliffhülse S_1 paßt der T-Aufsatz, ein T-förmiges Glasrohr mit zwei Schliffhülsen und einem Kernschliff. Durch die obere Schliffhülse S_2 ist das Einsteckrohr eingeführt, das je nach der Höhe der gewünschten Dampfkonzentration lang oder kurz, eng oder weit gewählt wird. Die seitliche Schliffhülse S_3 enthält schließlich einen Kernschliff mit kurzem Abführrohr. Tubus S_1 und Eintauchrohr sind sowohl mit dem Luftraum des Vorratsgefäßes als auch mit der Außenluft durch das Glasrohr G und einen Dreiwegehahn verbunden. Das kleine Thermometer kann anstatt

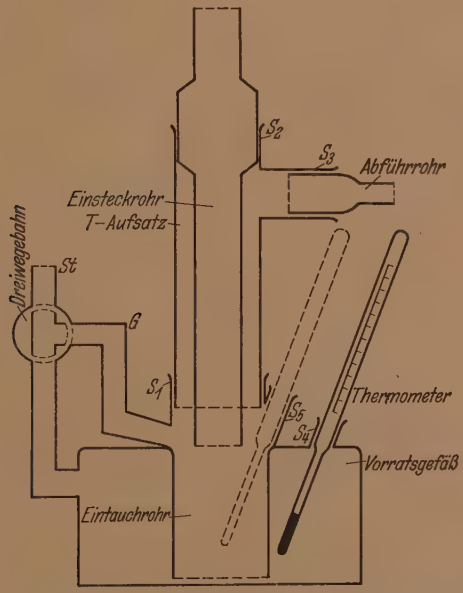


Abb. 1. Apparatur zur nebelfreien Vergasung von Flüssigkeiten, etwa $^1/_2$ der natürlichen Größe, schematisch. Erläuterung siehe Text.

durch S_4 auch durch S_5 geführt sein und somit in das Innere des Eintauchrohres ragen (in Abb. 1 gestrichelt gezeichnet). Ist das Thermometer durch S_4 geführt, so erübrigt sich die Ausführung von S_5.

Die beschriebene Vorrichtung ermöglicht die Herstellung einer Flüssigkeitsoberfläche von konstanter Größe und Temperatur. Wird diese Oberfläche mit einem Luftstrom konstanter Geschwindigkeit und Temperatur überströmt, so erhält man ein nebelfreies Dampf-Luftgemisch praktisch konstanter Konzentration. Die Konzentration kann in einfachster Weise durch Bestimmung des Gewichtsverlustes des Gefäßes am Ende des Versuchs festgestellt werden. Voraussetzung dafür ist, daß das Gefäß in seiner Größe und seinem Gewicht so bemessen ist, daß der in Frage

kommende Gewichtsverlust noch gut bestimmt werden kann, eine Forderung, die sich bei Verwendung von Waschflaschen nach dem älteren Verfahren häufig nicht erfüllen läßt. Im einzelnen wendet man die Apparatur wie folgt an:

Zur Füllung des Gefäßes wird die Schliffhülse S_1 mit einem Glasstopfen verschlossen. Der Dreiwegehahn wird so gestellt, daß er das Vorratsgefäß mit der Außenluft verbindet, S_1 aber von beiden abschließt. Darauf wird die zu verdampfende Flüssigkeit nach Herausnahme des Thermometers durch die Schliffhülse S_4 etwa bis zur halben Höhe des Vorratsgefäßes eingefüllt und der Dreiwegehahn allseitig gesperrt. Bei dieser Art des Füllens dringt die Flüssigkeit zunächst noch nicht oder nur wenig in das Eintauchrohr ein. Der Apparat wird darauf nach Einführung des Thermometers samt Inhalt gewogen und in einen kleinen Wasserthermostaten gesetzt. Ist die Apparatur fest eingespannt und Temperaturgleichgewicht eingetreten, so wird der Glasstopfen entfernt, der T-Aufsatz aufgesetzt und das mit dem Luftgebläse verbundene Einsteckrohr eingesteckt. Besteht dann keine Gefahr mehr, daß Erschütterungen des Gefäßes die Wände des Eintauchrohres mit Flüssigkeit benetzen, so stellt man den Dreiwegehahn so, daß Tubus S_1 und Vorratsgefäß miteinander kommunizieren. Hierdurch steigt die Flüssigkeit im Eintauchrohr auf die gleiche Höhe wie im Vorratsgefäß. Nun durchströmt man die Apparatur vom Einsteckrohr aus mit einem konstanten, durch ein Rotameter gemessenen Luftstrom von möglichst derselben Temperatur wie die Flüssigkeit. Die Temperierung des Luftstromes geschieht durch Hindurchleiten desselben durch eine in einem Wasserbad liegende Kupferrohrspirale. Bei nicht zu hohen Sättigungsgraden bleibt die so erzielte Dampfkonzentration stundenlang praktisch konstant. Zu ihrer Bestimmung durch Wägung stellt man den Dreiwegehahn so, daß nur Vorratsgefäß und Außenluft miteinander kommunizieren, und verbindet den Glasrohrstutzen *St* des Dreiwegehahns durch einen kleinen Gummischlauch mit einer Rekordspritze. Durch Anziehen des Spritzenstempels saugt man die Flüssigkeit aus dem Eintauchrohr heraus in das Vorratsgefäß. Hierauf dreht man den Dreiwegehan so, daß sämtliche Verbindungen gesperrt sind, entfernt den T-Aufsatz, setzt den Glasstopfen auf S_1 und bringt das abgetrocknete Gefäß zur Wägung. Bei der beschriebenen Art der Herausnahme des Gefäßes aus dem Wasserbad ist die Apparatur für jeden weiteren Versuch sofort wieder gebrauchsfertig.

Bei der Erzeugung höherer Konzentrationen, namentlich von Substanzen höherer Verdampfungswärme, empfiehlt es sich, die Temperatur des Luftstroms um einen empirisch zu ermittelnden geringen Betrag höher zu wählen als die Temperatur der Flüssigkeit. Auf diese Weise wird die Verdunstungskälte kompensiert und die Temperatur der Flüssigkeit von Anfang an konstant gehalten.

Ist die zu verdampfende Flüssigkeit praktisch 100%ig rein, eine fraktionierte Verdunstung also nicht zu befürchten, so ist es zweckmäßig, das Eintauchrohr an seinem unteren Ende zu verjüngen. Auf diese Weise wird eine Benetzung der Innenwand des Eintauchrohres durch Erschütterung des Gefäßes noch besser vermieden.

Zusammenfassung.

Durch Überströmen einer Flüssigkeitsoberfläche konstanter Größe mit einem Luftstrom konstanter Geschwindigkeit lassen sich bei konstanter Temperatur nebelfreie Dampfluftgemische konstanter Konzentration herstellen. Die Konzentration ist direkt durch Wägung des Flüssigkeitsverlustes bestimmbar. Es wird eine entsprechende Vorrichtung beschrieben, die zusätzlich eine Abstufung der Konzentration bei gleichbleibender Strömungsgeschwindigkeit erlaubt. Das Verfahren eignet sich besonders zur Erzeugung kleiner Konzentrationen.

Privatanschrift des Verfassers: Berlin-Spandau, Schnepfenreuther Weg 39a.

Aus dem Pharmakologischen Institut der kgl. ung. Peter Pázmány-Universität Budapest.

Über die Atmung der Gewebsstücke bei hohem Sauerstoffdruck.

Von

B. v. Issekutz, M. v. Harangozó-Oroszy, A. Murányi und **B. Bugyi.**

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 13. Juli 1943.)

Aus Untersuchungen von Harangozó-Oroszy und v. Issekutz jun. (1) erwies sich, daß aus Atmungsmessungen eines überlebenden Muskelstückes, die sie nach der von Mansfeld und Scheff-Pfeiffer (2) neuerdings vielfach angewandten Parnasschen Methode durchführten, sich keine Schlüsse auf den O_2-Verbrauch des Muskels im lebenden Organismus ableiten lassen. Beim Vergleich der mit dem Warburg-Manometer erhaltenen Ergebnisse mit dem nach der Methode von Issekutz jun. gemessenen O_2-Verbrauch der Hundeextremität bzw. dem Stoffwechsel von Ratten fanden sie nämlich, daß während der O_2-Verbrauch der lebenden Tiere auf Wirkung von α-Dinitrophenol hin sehr erheblich zunahm, die Atmung der aus ihnen ausgeschnittenen Muskelstücke eine weitaus geringere Steigerung erfuhr.

Die Ursache davon liegt — wie von Harangozó-Oroszy und v. Issekutz jun. dargetan — in der geringen O_2-Diffusionsgeschwindigkeit, derzufolge nur die O_2-Versorgung der Oberflächenzellen des überlebenden und in einer Sauerstoffatmosphäre aufgehängten Muskelstückes eine ausreichende ist. Nach der Warburgschen (3) Formel: $d = \sqrt{8\, c_0 \frac{D}{A}}$ ist nämlich die Schichtdicke berechenbar, deren Zellen bei 1 Atm. O_2-Druck noch genügend Sauerstoff erhalten. (In dieser Formel bedeuten: d = Grenzschichtdicke, c_0 = Partialdruck, D = O_2-Diffusionsgeschwindigkeit, A = O_2-Verbrauch von 1 g Organ binnen 1 Minute.)

Danach ist die Dicke der Schicht, deren Zellen mit Sauerstoff ausreichend versehen sind, direkt proportional der Quadratwurzel des O_2-Partialdruckes. Darin liegt die Erklärung dafür, daß als Mansfeld (4) zwecks Beweises der Richtigkeit seiner Methode vergleichende Versuche bei 0,7, 0,9 und 1 Atm. O_2-Druck anstellte, in den Atmungen bei den beiden letzteren O_2-Spannungen keinen Unterschied fand. Dieser müßte nämlich $(\sqrt{0{,}9} : \sqrt{1} = 0{,}949)$ im ganzen 5,1 % betragen, wogegen die Atmung bei 0,7 Atm. O_2-Druck ($\sqrt{0{,}7} = 0{,}837$) um 16,3 % geringer sein müßte als bei

1 Atm. Mit dem stimmen auch Mansfelds Messungen ziemlich gut überein.

Will man demnach die Atmung von mehr als 0,5 mm dicken Gewebsstücken messen, was gegenüber dem Arbeiten mit dünnen Gewebsschnitten unzweifelhaft Vorteile haben mag, so läßt sich die erforderliche O_2-Versorgung des ganzen Gewebsstückes nur durch Vornahme der Messung bei einem erheblich über 1 Atm. liegenden Druck gewährleisten. Da die Grenzschichtdicke der Quadratwurzel des O_2-Partialdruckes direkt proportional ist, so läßt sich eine wesentliche Besserung nur von der Steigerung des Druckes auf 5—10 Atm. erwarten. Da die unmittelbare Messung des O_2-Verbrauchs bei solch hohem Druck nicht als leicht zu lösende metho-

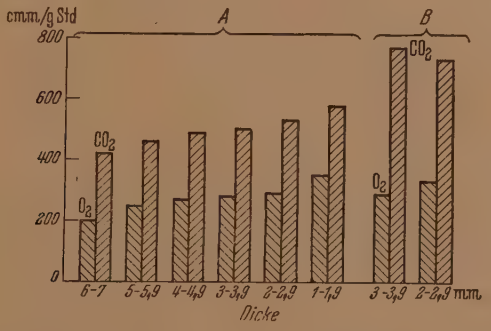


Abb. 1. Muskelstücke. O_2-Verbrauch bei 1 Atm.; CO_2-Produktion bei 8 Atm. O_2-Druck. *A*: Normal. *B*: Nach α-Dinitrophenol.

dische Aufgabe erschien, begnügten wir uns zunächst mit der Messung der CO_2-Produktion der Gewebsstücke.

Zu diesem Zwecke hängten wir dieselben in 5 cm hohe Reagensgläser mit einem Durchmesser von 2 cm auf und beschickten deren Böden zwecks Absorption der CO_2 mit 0,1 n $Ba(OH)_2$-Lösung. Durch die Stopfen der Reagensgläser sind gebogene Kapillarröhren geführt, durch die hindurch der hohe O_2-Druck mit dem Gefäßinnern kommuniziert. Sechs solcher Geräte werden mittels kleinen Stativs in einen Autoklaven gesetzt und darüber zwecks Reinigung des einströmenden Sauerstoffs ein Natronkalkbehälter angebracht. Der Autoklav wird mit O_2 von 8 Atm. Druck gefüllt und in einen Wasserthermostaten von 38° C aufgehängt, sodann 1 Stunde langsam geschüttelt. Nach Herausheben der Geräte wird die vom $Ba(OH)_2$ gebundene CO_2 durch Titration bestimmt. Da die Diffusionsgeschwindigkeit von CO_2 weitaus größer als die des Sauerstoffs ist, war nicht zu befürchten, daß das Ausdiffundieren der CO_2 wegen der Gewebsstücksdicke nicht genügend vollständig wäre.

Auf diese Weise nahmen wir an Ratten entnommenen Muskel-, Nieren- und Leberstücken Messungen vor, die wir mit dem O_2-Verbrauch von in den Gefäßen des Warburg-Manometers in O_2 von 1 Atm. Druck aufgehängten Organstücken verglichen.

Die Ergebnisse der zahlreichen Versuche gruppierten wir nach der Dicke der Gewebsstücke. Die Schichtdicke berechneten wir durch planimetrische Bestimmung der Oberflächengröße des Organstückes, mit dem das Gewicht geteilt wird. Auf Grund der aus 6—12 Versuchsergebnissen errechneten Mittelwerte zeichneten wir die Abb. 1—3. Auf Abb. 1 sind unter *A* die Messungen an normalen Muskelstücken, deren Schichtdicke zwischen 1 und 7 mm variierte, zusammengefaßt. Vergleicht man die bei 8 Atm. bestimmte CO_2-Produktion mit dem O_2-Verbrauch bei 1 Atm., so sieht man, daß erstere bei jeder Schichtdicke erheblich größer als letzterer st. Die Differenz wächst im gleichen Verhältnis mit der Muskelstückdicke.

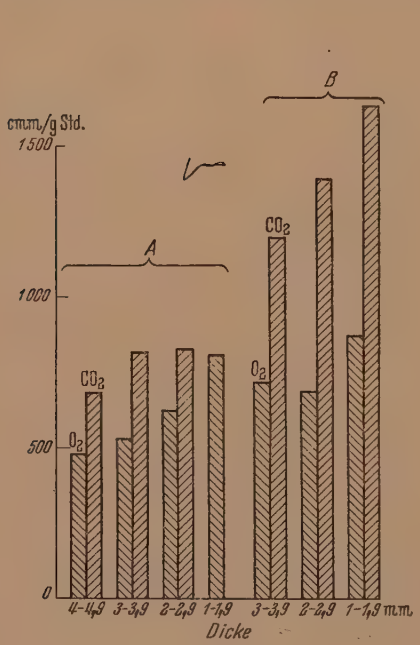


Abb. 2. Leberstücke.

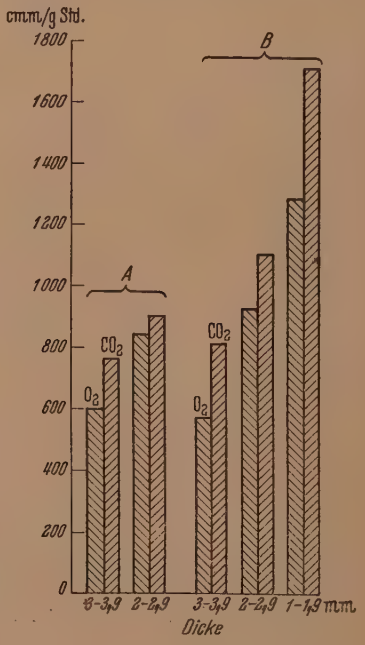


Abb. 3. Nierenstücke.

Die Säulen unter *B* zeigen die Ergebnisse der Versuche mit Muskelstücken, die aus mit α-Dinitrophenol behandelten und bedeutend gesteigerten Stoffwechsel besitzenden Ratten stammen. Wie ersichtlich, weist der O_2-Verbrauch bei 1 Atm. eine weit geringere Zunahme auf als die CO_2-Produktion bei 8 Atm. — Auf Abb. 2 sind die mit Rattenlebern durchgeführten Messungen veranschaulicht. Die *A*-Säulen zeigen den O_2-Verbrauch bzw. die bei 8 Atm. bestimmte CO_2-Erzeugung von Leberstücken normaler Tiere, die *B*-Säulen das gleiche von mit α-Dinitrophenol behandelten Ratten. Wie man sieht, ist auch hier die CO_2-Produktion bei 8 Atm. wesentlich größer als der O_2-Verbrauch bei 1 Atm. Die Wirkung von α-Dinitrophenol drückt

sich hier gleichfalls deutlicher in den Versuchen bei hohem Druck aus. Je geringer die Schichtdicke der Leberstücke, um so größer ist die Atmung. Die gleichen Ergebnisse weisen die mit Nierenstücken vorgenommenen völlig analogen Versuche auf (Abb. 3).

Die technische Unvollkommenheit dieser Versuche und der Umstand, bei hohem Druck nur die CO_2-Produktion messen zu können, veranlaßte uns zur Erfindung eines Differentialmanometers, mit dem wir die Atmung der Gewebsstücke auch bei hohem O_2-Druck vollkommen genau, unmittelbar zu messen vermochten.

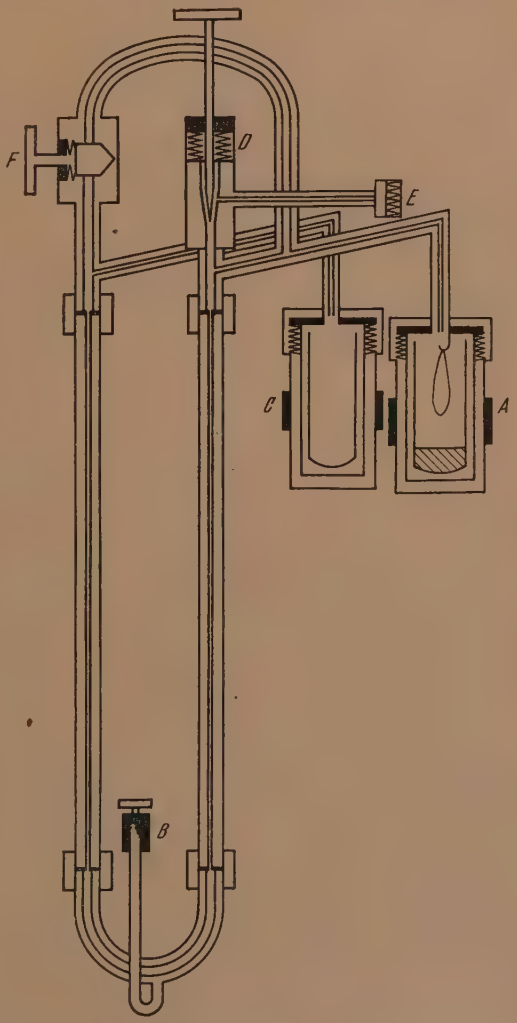


Abb. 4.

Dieser Apparat (Abb. 4) besteht aus zwei gleichgroßen, 65 mm hohen Kupferzylindern mit einer lichten Weite von 22 mm, in die genau passende Reagensgläser eingesetzt sind. Jeder Zylinder wird von einem mittels Gummi abgedichteten Schraubendeckel luftdicht verschlossen. Das ausgeschnittene Organstück wird auf den am Deckel des Gefäßes *A* angebrachten Haken so aufgehängt, daß es in das Reagensglas hineinragt, dessen Boden mit soviel 10%iger KOH beschickt ist, daß deren Volumen einschließlich dem Organstück 1,5 ccm beträgt. Auf diese Weise wird die Volumenkonstanz des Gefäßes *A* sichergestellt. Das Gefäß *C* dient der Kompensation. Wie aus Abb. 4 ersichtlich, werden die Gefäße durch eine Kupferröhre mit 3,8 mm Durchmesser mit den beiden Schenkeln eines U-förmigen Manometers verbunden. Dessen unterer Teil besteht aus einem Kupferrohr, sein 28 cm langer mittlerer Teil wird von einer dickwandigen, hohen Druck aushaltenden Kapillarröhre mit 0,5 mm innerem Durchmesser gebildet. Das Manometer ist durch das Rohr *B* hindurch 15 cm hoch mit Petroleum gefüllt. Das Gerät entspricht also im wesentlichen dem Barcroftschen Differentialmanometer. Der Unterschied liegt in der Einrichtung,

die es ermöglicht, das Gerät mit Sauerstoff hohen Druckes zu füllen und die Messungen bei diesem Druck durchzuführen. Dies geschieht mit Hilfe von zwei Hähnen. Hahn D ist durch das Seitenrohr E hindurch mittels Druckschlauchs mit dem Reduktionsventil einer Sauerstoffbombe verbunden. Durch dieses hindurch kann das System mit Sauerstoff gefüllt werden, und zwar auf die Weise, daß bei Offensein des Hahnes F in beiden Gefäßen A und C der gleiche Druck herstellbar ist, dessen Größe vom Metallmanometer des Reduktionsventils angezeigt wird. Wir erzeugten in der Regel einen Überdruck von 4 Atm. und schlossen sodann den Hahn D. Nunmehr hängten wir das Gerät auf die Schüttelvorrichtung des üblichen Wasserthermostaten auf, so daß die Gefäße A und C vollständig in das Wasser eintauchten. Nach dem Temperaturausgleich hoben wir durch Verschließen des Hahnes F die Verbindung zwischen den Gefäßen A und C auf. Damit beginnt die Messung, denn zufolge O_2-Verbrauchs zeigt das Petroleummanometer den zwischen den Gefäßen A und C entstehenden Druckunterschied an. Am Ende der Meßperiode wird der Druckunterschied durch Öffnen des Hahnes F ausgeglichen, sodann wird dieser wieder geschlossen und die neue Periode begonnen. Am Versuchsende läßt man den Sauerstoff allmählich austreten und fängt ihn in einem Meßzylinder auf; man bestimmt sein Volumen, aus dem man den Druck, der am Versuchsende im Gerät vorherrschte, genau berechnen kann. Die einzige Schwierigkeit besteht im luftdichten Verschluß der Hähne und der Gummidichtungen, doch überzeugten wir uns durch zeitweise vorgenommene Leerversuche von seinem Vorhandensein.

Zur Berechnung des O_2-Verbrauchs bedienten wir uns der Kroghschen (5) Formel:

$$x = d\left(A\,p\,\frac{273}{273+t_W} + v\,\frac{P-f_L}{760}\cdot\frac{273}{273+t_L}\cdot\frac{A+C}{2\,C}\right),$$

in der: A = Volumen des Atmungsgefäßes, C = Volumen des Kompensationsgefäßes, P = der Druck, bei dem die Messung vorgenommen wird, d = der dem Manometer abgelesene Druckunterschied in mm, p = Druck von 1 mm der Manometerflüssigkeit, v = Volumen von 1 mm der Manometerkapillare, t_W und t_L = Temperatur des Wassers bzw. der Luft, f_L = Wasserdampftension bei betreffender Lufttemperatur. Arbeitet man bei konstantem Druck und konstanter Temperatur, dann lassen sich an Hand dieser Formel die Konstanten unserer Geräte berechnen. Bei dem einen unserer Apparate entsprach 1 mm Druckunterschied 2,61 cmm O_2-Verbrauch, beim anderen 2,55 cmm.

Die ersten Versuchsserien führten wir mit frisch ausgeschnittenen 0,35—0,45 g schweren Katzen- bzw. Hundemuskelstücken durch. Wir maßen stets die Atmungen von zwei, in Größe und Form möglichst gleichen Muskelstücken: die eine im Warburg-Apparat bei 1 Atm., die andere bei 5 Atm. Druck. Wir hängten die Geräte im Wasserthermostaten bei 39° C auf und ließen auf übliche Weise schütteln. Bis zum völligen Ausgleich der Temperaturen warteten wir 20 Minuten, so daß die Messung der ersten Atmungsperiode in der Regel 30—40 Minuten nach der Muskelstückexcision begann. Die Atmungsperioden dauerten 30 Minuten, und die Messung wurde während 3—4 Stunden fortgesetzt. Die ersten beiden Perioden zeigten in der Regel wenig Unterschied, in den darauffolgenden Stunden aber nahm der O_2-Verbrauch der Muskelstücke stufenweise ab, und er war in der letzten Periode um 20—40 % geringer als der Anfangswert. Obgleich wir oft genug beobachteten, daß diese Atmungsabnahme

bei 1 Atm. O_2-Druck größer als bei 5 Atm. ist, so konnte eine ausgeprägte Regelmäßigkeit in dieser Hinsicht dennoch nicht festgestellt werden.

In Tabelle 1 ist der O_2-Verbrauch während der ersten Atmungsperioden auf 1 g frischen Muskel und 1 Stunde berechnet angeführt. Die letzte Säule zeigt den Quotienten (Q) der bei 5 bzw. 1 Atm. O_2-Druck gemessenen O_2-Verbrauche; der Quotient hatte — mit Ausnahme von drei Versuchen — stets einen Wert um 2 herum. Die Mittelwerte sind die folgenden: 1 g Muskel verbraucht während 1 Stunde bei 5 Atm. 860,2 cmm, bei 1 Atm. 396 cmm, der Quotient ist also gleich 2,17, was dem nach der Warburgschen Formel berechenbaren Quotienten $\sqrt{5} = 2{,}21$ sehr gut entspricht

Tabelle 1.

Bei 5 Atmosphären O_2-Druck			Bei 1 Atmosphären O_2-Druck			
a in mm	b in mm	O_2-Verbrauch in cmm/g Std.	a in mm	O_2-Verbrauch in cmm/g Std.	Q	
		1017,0		422,2	2,40	Katzenmuskelstücke
1,92	1,73	1202,3	1,81	455,3	2,64	„
3,77	2,05	797,3	2,87	270,8	2,94	„
3,52	2,24	709,6	2,12	585,0	1,21	„
1,92	2,14	790,0	1,54	443,4	1,78	„
3,92	2,04	857,3	3,09	389,2	2,20	Hundemuskelstücke
2,97	2,52	559,2	3,52	407,7	1,37	„
1,75	2,28	735,2	1,88	199,4	3,68	Katzenmuskelstücke
4,44	2,52	557,6	4,07	212,5	2,62	„
1,73	2,03	871,7	1,47	435,7	2,00	„
1,75	1,85	1017,3	3,24	345,7	2,94	„
2,52	2,24	709,6	2,46	291,8	2,43	„
2,35	1,73	1182,7	2,4	482,7	2,45	„
1,66	2,10	815,2	1,94	397,6	2,05	„
1,42	2,24	712,8	1,5	388,2	1,83	„
1,39	1,72	1228,6	1,27	611,7	2,00	„
Mittelwerte:		860,2		396,1	2,17	
2,1	3,21	349,1	1,9	123,8	2,82	Froschleber
1,17	1,72	1220,6	1,1	633,6	1,92	Froschniere
1,36	1,44	1725,3	1,14	352,6	4,89	„
3,16	3,76	254,0	2,42	82,5	3,07	Frosch-gastrocnemius
3,6	3,21	350,4	3,21	164,0	2,02	„

In der Tabelle 1 ist die tatsächliche Dicke der Muskelstücke (a) berücksichtigt und danebst der auf die Weise errechnete Grenzschichtdickenwert (b), daß der bei 5 Atm. gemessene O_2-Verbrauch in die Warburgsche Formel eingesetzt ist. So erhielten wir die Grenzschichtdicke, bei der die O_2-Versorgung der Muskelzellen unter obwaltenden Umständen als optimal zu betrachten war. Der so errechnete Wert lag in den meisten Versuchen der effektiven Muskelstückdicke sehr nahe, übertraf diese sogar in einzelnen Fällen; man kann also sagen, daß bei 5 Atm. O_2-Spannung bereits alle Muskelzellen genügend Sauerstoff erhalten haben, wogegen bei 1 Atm. nicht ganz die Hälfte des Muskelstücks atmete.

In einigen Versuchen verglichen wir auch die Atmung von Froschorganstücken bei 1 bzw. 5 Atm. O_2-Spannung. Auch hier fanden wir bei 5 Atm. einen zwei- bis dreifach höheren O_2-Verbrauch. In der darauffolgenden Serie bestimmten wir die Atmung von Rattenmuskel- und -leberstücken bei 5 Atm. O_2-Spannung, und zwar auf die Weise, daß wir in Äthernarkose einen Leberlappen und einen Gastrocnemius entfernten, sodann 2—3 mg/100 g α-Dinitrophenol gaben und auch den anderen Leberlappen und Gastrocnemius herausnahmen, als der Stoffwechsel des Tieres um 30—60 % zugenommen hatte. Mittels zwei gleichgroßer Apparate vermochten wir gleichzeitig den O_2-Verbrauch beider Organe bei hohem Druck zu messen. Die so erhaltenen Ergebnisse (Tabelle 2) sind vergleichbar mit unseren in den Abb. 1 und 2 angeführten Versuchen, bei denen wir den O_2-Verbrauch der Leber und des Gastrocnemius der Ratte bei 1 Atm. O_2-Spannung vor und nach Behandlung mit α-Dinitrophenol bestimmten. Auch hier ist feststellbar, daß bei 5 Atm. die Atmung des Muskels im Mittelwert 2,85mal und die der Leber im Mittelwert 2,3mal größer ist. Behandlung mit α-Dinitrophenol aber steigerte den Muskel- bzw. Leberlappen-O_2-Verbrauch im Mittelwert um 30 bzw. 16 %.

Tabelle 2.

Muskelstücke				Leberstücke			
normal		nach Dinitrophenol		normal		nach Dinitrophenol	
Dicke	O_2-Verbrauch	Dicke	O_2-Verbrauch	Dicke	O_2-Verbrauch	Dicke	O_2-Verbrauch
2,25	1299	2,20	1319	2,27	1378	2,47	1457
2,40	833	2,30	1450	2,90	1750	2,9	1890
1,90	1518	2,70	1600	1,98	2200	2,3	2350
3,66	1122	3,10	1327	2,19	1914	2,55	2100
2,40	1327	2,64	1460	2,27	1522	2,19	1985
2,97	764	2,30	1120	2,98	1185	2,3	1770
2,74	609	1,98	1280	1,80	1089	2,15	1220
Mittelwerte:	1067		1365		1576		1824

Besprechung der Versuchsergebnisse.

1. Unsere Messungen erweisen, daß der O_2-Verbrauch 2—3 mm dicker Organstücke je nach den bei den Versuchen angewandten O_2-Spannungen sich ändert, und zwar wächst er, bis jede einzelne Zelle in optimaler Weise mit Sauerstoff versorgt ist. Die optimale O_2-Versorgung kann auf zweierlei Art erzielt werden: entweder man mißt die Atmung dünner Schnitte nach der Warburgschen Methode bei 1 Atm. O_2-Spannung, oder man muß — wünscht man mit dickeren Gewebsstücken zu arbeiten — den O_2-Druck mindestens auf 5 Atm. steigern. Erstere Methode hat den Vorteil des einfacheren Versuchsgerätes, dagegen den Nachteil, daß bei zunehmender

Dünnheit des Schnittes relativ mehr Zellen verletzt werden, deren Atmung nach der Feststellung Druckreys (6) abnorm hoch ist. Es muß auch damit gerechnet werden, daß aus dünnen Schnitten in der Ringerlösung Stoffe ausdiffundieren können, deren Fehlen eine Störung in der Atmung des Schnittes zu bewirken vermag. Die Störung ist wohl durch Aufhängung der Gewebsstücke im Sauerstoffraume vermeidbar, wogegen dabei der Diffusionsmangel mit einer Anhäufung der Stoffwechselprodukte verbunden ist, was zur Atmungsverminderung führen muß.

2. Seit P. Berts Versuchen ist es bekannt, daß hohe O_2-Spannung Säugern sehr schädlich ist. Diese Giftwirkung wird auf zwei Faktoren zurückgeführt: a) Auf die CO_2-Anhäufung im Gewebe, da der CO_2-Transport infolge Mangels an freiem Alkali — bedingt durch das Fehlen reduzierten Hämoglobins — gehemmt ist, b) auf eine unmittelbare Hemmung der Atmungsfermente durch den Sauerstoff. Hierauf deuten die Versuche Brinkmann und Wildschuts (7), sowie die von Matthes (8), nach denen die Reduktion des Blutes in der Haut nach O_2-Einatmung sehr verlangsamt ist.

In unseren Versuchen vermag diese schädliche Wirkung der hohen O_2-Tension schon aus dem Grunde nicht zur Geltung zu kommen, weil zufolge der niedrigen O_2-Diffusionsgeschwindigkeit nur die äußersten Zellschichten über dem Notwendigen hinaus mit Sauerstoff versorgt werden; nur in diesen kann die O_2-Spannung abnorm hoch sein, im überwiegenden Teil der Gewebsstücke kann dagegen der O_2-Druck kaum über dem Normalen liegen. Hemmt bereits die O_2-Spannung von 1 Atm. die Zellatmung, wie dies die Untersuchungen Brinkmann und Wildschuts, sowie Matthes dartun, dann müßte diese schädliche Wirkung eigentlich auch bei der Warburgschen Methode zur Geltung kommen, denn auch hier sind die Gewebsstücke einer O_2-Spannung von 1 Atm. ausgesetzt.

Daß der hohe O_2-Druck in unseren Versuchen keine schädliche Wirkung auf die Zellatmung ausübt, beweist der Umstand, daß der O_2-Verbrauch des Gewebsstückes der theoretischen Berechnung entsprechend proportional der Quadratwurzel der O_2-Spannung zunimmt, und die Atmung ziemlich konstant auf diesem hohen Wert verbleibt; obgleich sie unzweifelhaft stufenweise sinkt, so geschieht dies nicht in einem schnelleren Tempo als bei 1 Atm. O_2-Spannung. Wäre aber der hohe O_2-Druck tatsächlich schädlich, dann müßte der anfängliche hohe O_2-Verbrauch mit dem Vorschreiten der Schädigung rasch abnehmen.

Des Vergleichs wegen maßen wir in zahlreichen Versuchen den O_2-Verbrauch etwa 0,5 mm dicker Rattenzwerchfellstücke in Ringerlösung nach der Warburgschen Methode bei 1 Atm. O_2-Druck. Wir stellten ihn mit 1200—1500 cmm pro 1 Stunde und 1 g frischer Muskel fest. Somit ist die Atmung des dünnen Zwerchfells wesentlich größer als der bei 5 Atm. gemessene O_2-Verbrauch des 2—3 mm dicken Gastrocnemius. Dies beweist,

daß der hohe O_2-Druck keine abnormen Verhältnisse hervorbringt, die Zellen nicht reizt, sondern lediglich die Dicke des Gewebsstückes kompensiert und die Möglichkeit schafft, daß jede Zelle ebenso gut mit O_2 versehen sei, wie wenn man Warburgs Vorschrift entsprechend die Zellatmung an weniger als 0,5 mm dicken Gewebsschnitten mißt.

3. Obgleich es keinem Zweifel unterliegt, daß die Atmung 2—3 mm dicker Muskelstücke bei 1 Atm. O_2-Spannung ausreichend übereinstimmt mit dem gemessenen O_2-Verbrauch der ruhenden Muskulatur des lebenden Tieres [Mansfeld (2)], so muß dennoch Mansfelds (4) Geflogenheit, aus der O_2-Verbrauchsmessung des Organstückes auf die Stoffwechselverhältnisse des lebenden Tieres zu schließen, als zu weitgehend betrachtet werden. Sowohl der ruhende, wie der überlebende Muskel besitzen (bei 1 Atm. O_2-Druck) eine weit niedrigere Atmung als sie im Gewebsschnitt oder bei hohem O_2-Druck aufweisen. In beiden Fällen bewirkt die mangelhafte O_2-Versorgung der Muskelzellen den niedrigen O_2-Verbrauch. Dies aber ist in der ruhenden Muskulatur des lebenden Tieres eine Folge davon, daß nur $^1/_{10}$ der Kapillaren offen ist. Aus diesem Grunde ändert sich der Muskel-O_2-Verbrauch direkt proportional der Blutversorgung, und er steigt auf Wirkung gefäßerweiternder Mittel hin, wie dies die Versuche von Issekutz jun. (9) beweisen.

Es kann kaum zweifelhaft sein, daß der Blutversorgung in der Regulierung des Muskelstoffwechsels eine sehr bedeutende Rolle zukommt. Damit ist es in erster Linie zu erklären, daß während zwischen den Atmungen von aus verschiedenst großen Säugern (Mäuse, Rinder) stammenden Gewebsschnitten ein höchstens 100 %iger Unterschied besteht, der Stoffwechsel der lebenden Tiere auf die Gewichtseinheit berechnet — nach Grafe (10) — eine 3000 %ige Differenz aufweist. Auf die wichtige Rolle der Blutversorgung in der Stoffwechselregulierung weist auch die Berechnung Terroines (11) hin, nach der die auf 1 kg Körpergewicht berechnete Wärmeproduktion verschiedener Tiere (Meerschweinchen, Hund, Pferd) geteilt mit dem Produkt aus Puls- und Muskelkapillarzahl eine konstante Zahl ergibt.

Bei in vitro-Versuchen hängt die Muskelstückatmung nicht von der Anzahl der Kapillaren, der Blutversorgung ab, sondern nur von Schichtdicke und O_2-Spannung, weshalb — bei gleichbleibenden Versuchsbedingungen — der so gemessene O_2-Verbrauch der Muskelstücke natürlich eine wesentlich geringere Schwankung zeigt als im lebenden Tiere, in dem die Blutversorgung auf geringste Einwirkungen hin und insbesondere im Interesse der Wärmeregulierung sich sehr rasch ändert, worauf auch die Versuche von Harangozó-Oroszy und v. Issekutz jun. (1) hinweisen.

4. Akzeptiert man somit die Rolle der Blutversorgung als wichtigen Regulator der O_2-Aufnahme des Muskels und sieht, daß der Muskel-

O_2-Verbrauch im Lebendigen zufolge Eröffnung der geschlossenen Kapillaren stark anzuwachsen vermag, dann muß mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß der O_2-Verbrauch des ausgeschnittenen Muskelstückes auch dann einen normalen Wert aufweist, wenn die O_2-Aufnahme im Lebendigen zufolge reichlicherer Blutversorgung beträchtlich zugenommen hat. Denn es ist klar, daß eine solche, von der besseren Blutversorgung bewirkte Steigerung der Oxydation allsogleich aufhören muß, sobald die reichliche O_2-Zufuhr aufgehoben wird. Bei invitro-Versuchen kann mit dem Bestehenbleiben nur einer solchen Stoffwechselzunahme gerechnet werden, die auf einer Veränderung des Zelloxydationssystems oder mindestens auf der Permeabilitätszunahme der Zellen beruht. So kann die von α-Dinitrophenol im Lebendigen hervorgebrachte Stoffwechselsteigerung auch nach dem Ausschneiden der Organ- und Muskelstücke mehr oder minder vollkommen bestehen bleiben.

Das Außerbetrachtlassen dieser Überlegungen führte Mansfeld (12) zu der wahrscheinlich irrigen Schlußfolgerung, daß Thyroxin den Stoffwechsel nur zufolge der Wirkung auf die Eingeweide steigere; den Muskelstoffwechsel aber erhöhe es nicht, weil er den O_2-Verbrauch aus mit Thyroxin behandelten Tieren ausgeschnittener Muskelstücke oder der durchbluteten Extremitäten solcher Tiere normal befand. Nach Vorstehendem beweist dies noch überhaupt nicht, daß der Muskel-O_2-Verbrauch auch in dem mit Thyroxin behandelten Tiere nicht über dem Normalen gelegen hat. U. E. ließe sich dies nur durch im Lebendigen durchgeführte unmittelbare Messung beweisen. Solange dies nicht geschieht, müssen wir es als unwahrscheinlich erachten! Denn im Ruhezustand nahm die Muskulatur mit etwa 30% am Stoffwechsel des Tieres teil, und in der Wärmeregulierung spielt die Zunahme der Muskelwärmeproduktion eine sehr wichtige Rolle. In Anbetracht der engen Beziehung, die zwischen Schilddrüsenfunktion und Wärmeregulierung besteht, ist es kaum vorstellbar, daß die Muskulatur an der stoffwechselsteigernden Wirkung des Thyroxins nicht beteiligt wäre. Dagegen spricht auch, daß nach den Untersuchungen von Boothby (13), sowie Eimer (14) Thyreodisierung die Kreatinentleerung im Harn beträchtlich steigert. Dies aber deutet auf eine Zunahme des Muskelstoffwechsels, denn aus den Untersuchungen Terroine und Garots (15) ist es bekannt, daß zwischen Muskelstoffwechsel und Kreatinausscheidung im Harn eine enge Beziehung besteht.

Zusammenfassung.

Da zufolge geringen Diffusionsvermögens des Sauerstoffs die O_2-Versorgung 2—5 mm starker Gewebsstücke bei 1 Atm. O_2-Spannung nicht ausreichend sein kann, so haben wir sie durch Steigerung des O_2-Druckes verbessert. Es gelang uns für diesen Zweck ein Differentialmanometer zu konstruieren, mit dem es möglich ist, auch bei 5 Atm. O_2-Spannung

die Atmung von Gewebsstücken genau zu messen. Die Atmung fanden wir der Warburgschen Formel entsprechend mehr als doppelt so groß als bei 1 Atm.

Die Zellatmung ist daher, in weiten Grenzen, eine Funktion der O_2-Versorgung: die Atmung wächst dieser proportional solange, bis jede Zelle eine optimale Menge Sauerstoff empfängt.

Da im Lebendigen die O_2-Aufnahme des Muskels von der Blutversorgung reguliert wird, der des ausgeschnittenen Muskels dagegen von Schichtdicke und O_2-Spannung abhängt, ist aus der auf diese Weise gemessenen Atmung kaum auf den Stoffwechsel im Lebendigen zu schließen.

Literatur.

1) Harangozó-Oroszy, M., u. B. v. Issekutz jun.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **200**, 146 (1942). — 2) Mansfeld, G., u. I. Scheff-Pfeiffer: Ebenda **190**, 585 (1938). — 3) Warburg, O.: Biochem. Z. **142**, 317 (1923). — 4) Mansfeld, G.: Die Hormone der Schilddrüse und ihre Wirkungen. Basel-Budapest 1943, S. 74. — 5) Krogh, A.: Biochem. Z. **62**, 266 (1914); **66**, 512 (1914). — 6) Druckrey: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **180**, 231 (1936). — 7) Brinkmann u. Wildschut: Acta neerld. Physiol. etc. **9**, 187 (1939). — 8) Matthes: Pflügers Arch. **246**, 70 (1942). — 9) Issekutz jun., B. v.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 313 (1941). — 10) Grafe, E.: In Oppenheimers Handb. d. Biochem. Erg.-Werk Bd. III, S. 697 (1936). — 11) Terroine: C. r. Acad. d. sciens. **178**, 1022 (1924). — 12) Mansfeld, G.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 236 (1939). — 13) Boothby, C. S.: J. Physiol. (Am.) **74**, 376 (1932). — 14) Eimer: Z. exper. Med. **77**, 455 (1931). — 15) Terroine u. Garot: Arch. internat. Physiol. **27**, 69 (1926).

Aus dem Institut für Luftfahrtmedizin München.
(Leiter: Oberstabsarzt Prof. G. A. Weltz.)

Sauerstoffmangel als Ursache des Kältetodes.

Von

R. v. Werz, München.

Mit 8 Textabbildungen.

(Eingegangen am 22. Juli 1943.)

Wenn Tiere — etwa durch kalte Bäder — tödlich abgekühlt werden (1), so endet das Leben bei Körpertemperaturen, die ganz verschieden hoch sein können (2) (3) (4). Die Todestemperatur liegt übrigens um so tiefer, je schneller die Abkühlung erfolgt. Diese Tatsache, die Weltz, Wendt und Ruppin (5) gefunden haben, stand am Anfang unserer Untersuchungen über die Abkühlung. Abb. 1 zeigt den Verlauf der Todesschwelle, wie er von den genannten Autoren für Meerschweinchen ermittelt wurde.

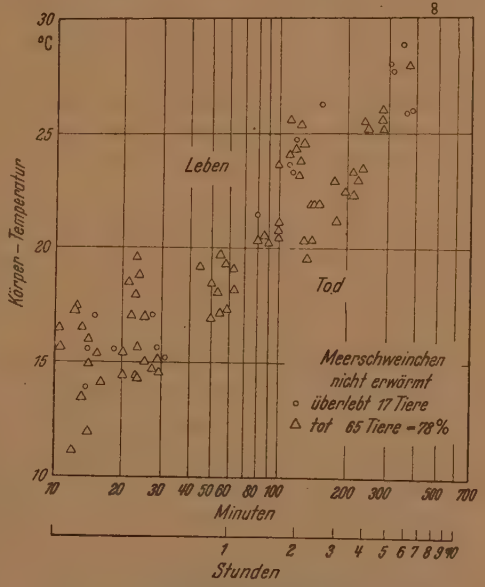


Abb. 1. Abhängigkeit des Kältetodes von Temperatur (Ordinate) und Zeit (Abszisse, logarithmisch). Nach Weltz, Wendt und Ruppin.

Es fiel uns auf, daß diese Kurve große Ähnlichkeit zeigt mit der Dosis-Wirkungskurve von Stoffen, die von der Toxikologie als c. t-Gifte bezeichnet werden. D. h. der Kälteschaden verhält sich formal gesehen wie ein Gift, bei dem die Wirkung ein Produkt aus Konzentration mal Zeit ist. Deshalb konnten wir uns die Aufgabe stellen, nach dem Angriffspunkt und dem Wirkungsmechanismus der Kälte unter der fiktiven Annahme zu suchen, als ob wir berechtigt wären, den Kältetod auf die Wirkung eines einheitlichen Agens zurückzuführen.

Gibt es nun wirklich einen letzten und primären Angriffspunkt und ist es überhaupt möglich, den Kältetod aus einer Hauptursache zu erklären? Oder ist es müßig, jenseits der Kälte selbst ein vermittelndes

Zwischenglied des Geschehens zu vermuten, dessen Kenntnis erst unser Kausalitätsbedürfnis zu befriedigen verspricht?

Die Verhältnisse sind weitgehend undurchsichtig, denn aus alten und neueren Untersuchungen* kennen wir eine große Anzahl eindrucksvoller Befunde, die sehr wohl als mögliche Todesursachen in Frage kommen (1) (2) (3). Die betreffenden Veränderungen physiologischer und pathologisch-anatomischer Art liegen jedoch auf ganz verschiedenen Gebieten, so daß es schon deshalb schwer fällt, sie untereinander in Beziehung zu setzen und sie auf ihren Erklärungswert hin abzuwägen. Was ist Ursache, was Begleiterscheinung? Was erweist sich als kausale Verkettung und welche Erscheinungen sind andererseits, welchen Gliedern dieser kausalen Reihe nur horizontal koordiniert?

Dem Mangel einer einheitlichen Erklärungsweise von wirklicher Überzeugungskraft steht also eine Fülle von einzelnen offenbar unzulänglichen Erklärungen gegenüber, analog der Erfahrung, daß die meisten Heilmittel gerade gegen solche Krankheiten empfohlen werden, gegen die ein wirksames Spezificum noch nicht gefunden werden konnte. Das sieht danach aus, als sei die wahre Ursache des Kältetodes noch nicht bekannt, weil es bisher nicht gelang, das Entscheidende aus dem Nebensächlichen herauszuheben.

Wenn wir im Gegensatz zu der vorherrschenden „multi-“ bzw. „heterokausalistischen“ Auffassung mit Hartnäckigkeit daran festhalten, daß die Hauptursache des Kältetodes einheitlich sein müsse, so war ein wichtiger Grund dafür die Entdeckung, daß die Kurve der Todesschwelle jenen stetigen Verlauf zeigt (Abb. 1).

Bereits Weltz, Wendt und Ruppin (5) schreiben in ihrer Arbeit: „Die Tatsache, daß sich die Todesschwelle bei logarithmischem Zeitmaßstab zur Geraden ordnet, hat auf uns einen starken Eindruck gemacht. Wir glauben darin unmittelbar einen Fingerzeig dafür zu sehen, daß ein Faktor die Vielzahl der pathologisch-anatomisch gefundenen Todesursachen überragend beherrscht.“ Nach dieser mutmaßlichen einheitlichen Ursache setzte in unserem Institut eine konzentrische Suche ein. Sie endete damit, daß wir auf zwei ganz verschiedenen Wegen die Hauptursache gefunden haben, oder besser gesagt, daß wir nunmehr zu beweisen vermögen (6), welche von den genannten Momenten als Hauptursache anzusprechen ist. Der Anteil des Verfassers an dieser Suche ist der eigentliche Inhalt dieser Arbeit.

---

* Nach Abschluß der vorliegenden Arbeit erschienen aus dem Institut von Rein mehrere ausführliche Mitteilungen von Grosse-Brockhoff (41), die einen guten Überblick über die vielfältigen Symptome des Abkühlungszustandes vermitteln und gleichzeitig das Fehlen einer einheitlichen Auffassung des Kältetodes widerspiegeln. Nach diesen Arbeiten ist „das Entscheidende für die Todesursache bei der akuten Unterkühlung die Abnahme der Erregbarkeit der medullären Zentren und der Erregungsbildner des Herzens“.

Rückblickend auf die bisherige Entwicklung des Abkühlungsproblems haben wir den Eindruck, daß das Interesse der Forscher teilweise allzu stark durch Erscheinungen gefesselt wurde, die in ihrer Gesamtheit noch dem weitverzweigten System der Wärmeregulation angehören. So verständlich das ist, so waren wir uns doch darüber im klaren, daß man sich bei der Befassung mit solchen Erscheinungen noch im Vorhof des eigentlichen Auskühlungsproblems befindet. Beginnt doch dieses gerade an dem Punkte, wo die Wärmeregulation bereits versagt hat und eine Auskühlung schon eingetreten ist, also praktisch erst unter 37°! Auf der Suche nach dem Mechanismus des Kältetodes mußten wir bewußt an allen Symptomen vorbeigehen, die auch schon oberhalb dieser Grenze vorkommen, wie überhaupt an allem, was nicht unmittelbar Todesursache sein konnte.

Dem Bedenken, daß unser Unterfangen verfrüht, ja vielleicht aussichtslos sei, stand unsere Überzeugung gegenüber, daß die Bedürfnisse der ärztlichen Praxis, wie sie gerade durch den Krieg gegeben sind, gebieterisch eine Wesensklärung des Abkühlungszustandes fordern. Seitdem gezeigt wurde, daß die symptomatische Therapie mit Analepticis, mit denen sich der Arzt bei anderen, unklaren Zuständen funktionellen Versagens oft behelfen kann, beim Abgekühlten nutzlos (1) und sogar gefährlich ist (8) (9), müssen Formulierungen, wie die vom „allgemeinen Versagen der Regulationen" paradox oder inhaltsleer erscheinen. Vor dem Imperativ sofortiger ärztlicher Hilfeleistung verblaßt diese Feststellung ebenso zum bloßen Gemeinplatz, wie die an sich nicht falsche, aber nichtssagende Feststellung eines „Zusammenbruchs der Wärmeregulation". Der Arzt, der eine tödliche Gefahr bekämpfen soll, muß zumindest wissen, aus welcher Richtung sie zu erwarten ist, d. h. es muß ihm das Wesen der Gefahr bekannt sein.

Wenn es sonstwo gilt, den unbekannten chemischen Wirkstoff aus einem natürlich vorkommenden Komplex zu isolieren, so bedient sich der Chemiker solcher Methoden, welche eine sukzessive Entfernung der unwirksamen Begleitstoffe und damit eine fortschreitende Einengung des gesuchten x ermöglichen. Auch wir standen einem solchen komplexen Gemenge gegenüber. Nicht ein Zuwenig, sondern ein Zuviel an Einzelfeststellungen erschwert zur Zeit die Wertung der Befunde und ihre Ordnung. Dementsprechend hat es uns auch mehr Zeit und Mühe gekostet, für unseren Zweck überflüssige Tatsachen loszuwerden, als einige fehlende Glieder unserer Beweiskette durch eigene Versuche einzufügen.

Für unser Ziel kam es also zunächst darauf an, zu wägen und zu bewerten, einzuengen und auszuschalten, nicht aber neuen experimentellen Rohstoff auf den ohnehin schon zu großen Tatsachenhaufen zu türmen. Dieser Einengungsprozeß, an dessen Ende wir hofften, die Hauptursache des Kältetodes „chemisch rein" in die Hand zu bekommen, wird im 1. Teil dieser Untersuchung eingehend beschrieben. Erst dieses abbauende Vorgehen schafft Raum 2. für die Darlegung der Hypothese vom hämatogenen

O_2-Mangel als der wesentlichen Todesursache. Aus ihr werden schließlich 3. die wichtigsten Erscheinungen des hypothermen Zustandes deduktiv abgeleitet und damit zuletzt der Versuch gemacht, die eingeführte Hypothese zu einer in sich geschlossenen Theorie des Kältetodes zu erheben.

I. Worauf der Kältetod nicht beruht.

Ein erster Schritt auf dem Wege zur richtigen Bewertung der Todesschwelle war seinerzeit unsere Erkenntnis, daß für die Begriffsbildung des reinen Kältetodes alle jene Tiere ausgeschieden werden müssen, welche die durchschnittliche Überlebenszeit nicht erreichen, und zwar deshalb nicht, weil diese formal als überempfindlich erscheinenden Tiere im Gegensatz zu der resistenteren Mehrzahl an Lungenödem sterben. Dieses ist also (beim Meerschweinchen) als ein sozusagen „interkurrentes" Ereignis zu bewerten, das mit dem eigentlichen Kältetode nichts zu tun hat. Gleichgültig, welches die individuellen oder konstitutionellen Bedingungen für sein Auftreten sein mögen, ist beim Lungenödem Kälte jedenfalls nur mittelbar Todesursache, so daß es ausgeschieden werden muß, wo nach der unmittelbaren Todesursache gefragt wird.

Eine Erschöpfung der Energiereserven, wie sie als Folge langdauernder Kälteeinwirkung schon von den älteren Autoren festgestellt wurde (10) (11), spielt beim akuten Kältetod jedenfalls keine kausale Rolle, weil hier die Zeit für einen Verbrauch der Kohlehydrate nicht entfernt ausreicht, so daß denn auch unter diesen Umständen der Glykogengehalt der Organe praktisch unverändert gefunden wurde (5) (11) (12). Auf Grund der gleichen Überlegung werden wir aber auch alle anderen Funktionsänderungen, die erst bei langdauernder Kälteeinwirkung (bzw. bei mittleren und geringfügigen Abkühlungsgraden) eintreten, als Ursache des akuten Kältetodes ausschalten dürfen.

Das gilt in erster Linie für die auch heute noch vielbeachteten Veränderungen, die sich nach anhaltender bzw. wiederholter Kältewirkung am System der Schilddrüse nachweisen lassen (12). Schon die pharmakologische Tatsache, daß die Thyroxinwirkung eine sehr bedeutende Latenzzeit aufweist, läßt es für dringliche Regulationen ungeeignet erscheinen, so daß sein Einsatz bei akuten Störungen des Wärmehaushalts als unzweckmäßig und deshalb von vornherein als unwahrscheinlich erscheinen muß; denn der Organismus dürfte es sicher vermeiden, ein Geschoß abzufeuern, das erst nach vielen Stunden am Ziel ankommt und dann bei veränderter Sachlage schweren Schaden anrichten könnte. Und das gilt ganz allgemein für alle Wirkstoffe mit geringer Steuerbarkeit, zu denen wir in diesem Zusammenhang auch noch das Rindenhormon der Nebenniere werden rechnen müssen. In der Tat fand das Büchnersche Institut eine Entspeicherung der Rindenlipoide nur nach relativ langdauernder Abkühlung und umgekehrt Hyperthrophie der Rinde mit vermehrter

Lipoideinlagerung erst recht nur bei Tieren, die durch langen Aufenthalt in mäßiger Kälte zu einer andauernden — und erfolgreichen — Anspannung der Wärmeregulation gezwungen worden waren (12). Auch wir deuteten jene Fälle, wo es nach ein- bis zweimaliger Abkühlung von Ratten zu überraschend eintretendem Spättod (bis zu 8 Tagen) mit enormer Rindenhypertrophie gekommen war, im Sinne von Kompensationsvorgängen, die vielleicht „prophylaktische" Bedeutung gewinnen können. Alles deutet auf eine Rolle der Nebennierenrinde beim Spättod hin (12) (15), der uns aber hier unmittelbar nicht interessiert, weil er bei bereits wieder normaler Temperatur erfolgt oder erfolgen kann. Hingegen ist es für unsere Fragestellung um so mehr bemerkenswert, daß sich beim akuten Kältetod, wo sich eine Entspeicherung der Rindenlipoide zeitlich noch nicht entwickeln kann, als regelmäßiger histologischer Befund eine Vakuolenbildung der inneren Rinden- sowie der Markzellen der Nebenniere findet [Pichotke (12)]; sie ist den Pathologen anderweitig als Folge hypoxämischer Zustände bekannt (14). Auf ihre Deutung werden wir noch zurückkommen; hier sei nur bemerkt, daß auch sie den akuten Kältetod wohl kaum ausreichend erklären können, da ja selbst der völlige Nebennierenmangel erst nach vielen Stunden bzw. Tagen zum Tode führt. Im Gegensatz dazu tötet starke Kälte akut; ein Bad von 10° C z. B. binnen 30—40 Minuten [Meerschweinchen (5)]. Diese Überlegungen können wir also dahin zusammenfassen, daß der akute Kältetod mit einem Ausfall dieser Hormone wohl gleichfalls nicht erklärt werden kann.

Eher wäre schon das Gegenteil denkbar, denn sowohl die Veränderungen an der Nebennierenrinde, wie erst recht die an der chromaffinen Marksubstanz machen es zusammen mit zahlreichen physiologischen Beobachtungen (17) gewiß, daß auch dem akuten Kältetod eine vermehrte Ausschüttung diese rInkrete vorausgeht, was insbesondere mit unseren Kenntnissen über die Notfallsfunktion des Adrenalins (Cannon) gut zusammenstimmt. Daß Kälte zu Adrenalinämie führt, ist nach zahlreichen alten Befunden, die seither oft bestätigt wurden, gewiß (17). Andererseits ist es in einzelnen Fällen gelungen, Erscheinungen, die wir heute als Abkühlungssymptome ansehen, auf eine vermehrte Adrenalinausschüttung bzw. auf Splanchnicuserregung zurückzuführen. Von diesen Erscheinungen ist am längsten bekannt die seinerzeit sog. Kälteglykosurie, der eine [von Geiger (18) als solche erkannte und bezeichnete] Abkühlungshyperglykämie zugrunde liegt. Ebenso wie diese ist nach Geiger auch die vermehrte Milchsäurebildung an ein Sinken der Körpertemperatur unter die Norm gebunden, wie andererseits beide Erscheinungen von der Unversehrtheit des Splanchnicus abhängen (19). Die doppelte Bedingtheit dieser Erscheinungen, zu denen beim Menschen auch eine vermehrte Ketonkörperbildung zu gehören scheint (20), ließ schon vor einiger Zeit Zweifel an der alten Auffassung rege werden (3), derzufolge es sich hier um regulatorische Vorgänge im Dienste des Wärmehaushalts handeln

sollte (10). Tatsächlich deutet die Abhängigkeit von der Temperatur nicht der Umgebung, sondern des Körpers darauf hin, daß im Zustand der Abkühlung die Erfolgsfunktionen des Adrenalins nicht mehr glatt und reibungslos ineinandergreifen; der Motor des adrenalen Systems läuft also nicht nur auf hohen und höchsten Touren, sondern darüber hinaus treten schon früh partielle Blockierungen auf, die dann Störungen im normalen Gefälle der Reaktionsgleichgewichte hervorrufen. Für unsere Fragestellung heißt das, daß wir auch der vermehrten Adrenalinausschüttung als solcher höchstens eine konditionale, aber keinesfalls eine primärkausale Bedeutung des Kältetodes beimessen können. Andererseits begegnet uns aber nach dieser Auffassung in dem erwähnten Stoffwechselsyndrom zum ersten Male eine Kategorie von Symptomen, die sich als unmittelbar kältebedingte Störungen von den rein regulatorischen Vorgängen abheben läßt. Diese Breschen in der Front der Abwehrvorgänge sind es nun, die uns in weit höherem Maße als die Abwehrmaßnahmen selbst interessieren müssen. Sehen wir in diesen Lücken des Abwehrsystems doch gleichsam die frischen Spuren des Feindes vor uns. Wir wollen ihnen aber jetzt nicht weiter folgen, sondern sie erst später wieder aufnehmen, nachdem wir noch weitere Indizien beisammen haben.

Bevor wir uns indessen auf ein neues Feld begeben, wo wir hoffen dürfen, weitere „Spuren" zu finden, können wir den bisher zurückgelegten Weg kurz überblicken. Wir geben uns dann zweckmäßig Rechenschaft darüber, daß wir uns durch folgende Annahmen leiten ließen: 1. daß sich der jeder Form des Kältetodes gemeinsame Kausalfaktor am reinsten beim akuten Kältetod ausprägen wird, weil 2. bei weniger brutaler Abkühlung immer stärker solche Veränderungen im Bild vorherrschen, die Ausdruck einer (wenn auch schließlich mißlingenden) Kompensation sind, so daß schließlich 3. diesseits der Todesschwelle, im Bereich des kompensierbaren Wärmeverlustes, nur noch Kompensationsvorgänge vorherrschen. Daraus ergab sich die Chance, diese regulatorischen Vorgänge insgesamt aus unseren Überlegungen ausscheiden zu können. Wir hätten also von der gesamten Symptomatologie des akuten Kältetodes nur die Abwehrmaßnahmen zu subtrahieren, um jenen Rest übrigzubehalten, auf den es ankommen muß. Indem wir nach diesem Rezept verfuhren, hofften wir zu vermeiden, daß auch wir von der Mannigfaltigkeit der Erscheinungen irregeführt oder in die Gefahr geraten würden, jeweils den erstbesten eindrucksvollen Befund vergeblich zu verfolgen. Am Abschluß dieses ersten Filtrationsvorgangs konnten wir zunächst einmal alles „Hormonale" mit dem Filtrat verwerfen und behielten als „verdächtig" einen ersten Filterrückstand von bescheidenem Umfang: die Zunahme der Blutmilchsäure, die Ketonurie (20), einen „Teil" mindestens der Hyperglykämie und nicht zuletzt die histologischen Schädigungen in der Nebenniere und einigen anderen Organen. Das ist zunächst wenig, gemessen aber an der Ausscheidung von Ballast, also an pharmakologischen

Maßstäben, können wir immerhin einen befriedigenden Nutzeffekt des Einengungsprozesses für uns buchen.

Eine verbindende Stellung zwischen der hormonalen Sphäre, die wir oben beiseitesetzten, und den noch zu besprechenden Verhältnissen von Kreislauf und Atmung nehmen die zum Teil hormonal ausgelösten Verschiebungen in der Blutverteilung und -zusammensetzung ein, wie sie zuletzt von Wendt (21) an unserem Institut untersucht wurden. Es kommt hier, wie schon in der grundlegenden Arbeit Stämmlers (22) beschrieben, zu einer starken Vermehrung der Erythrocyten, während die Leukocyten fast gänzlich aus dem Blut verschwinden; sie finden sich in den Lungenkapillaren angehäuft (22). Diese Änderungen des Blutbildes treten im Tierversuch ebenfalls nur bei subnormalen Körpertemperaturen auf; sie sind mit Wiedererwärmung glatt reversibel (21) (22).

Allerdings sei bemerkt, daß man bei geretteten Schiffbrüchigen Erythrocytenwerte bis zu 8 Millionen noch am Tage nach der Bergung, also bei annähernd normaler oder sogar erhöhter Körpertemperatur, gefunden hat.

Das Spiegelbild der Erythrocytenbewegung ist die grundsätzliche schon länger bekannte Entspeicherung der Milz (23), die Wendt am Kaninchen in schönen Röntgenaufnahmen verfolgt und zu den Veränderungen des Blutbildes in Beziehung gesetzt hat.

Das Ausmaß der Milzverkleinerung entspricht bei länger anhaltender Kälteeinwirkung der Milzkontraktion durch hohe Adrenalindosen (21), womit übereinstimmt, daß man sie seit jeher auf Adrenalinausschüttung zurückgeführt hat; bei ihr kommt der Zeitfaktor deutlich zum Ausdruck (21).

Im Gegensatz zur Milzkontraktion ist die Veränderung des Blutbildes durch Adrenalin allein nicht zu erklären, da das Adrenalin außer einer Ausschwemmung von roten auch eine solche der weißen Blutkörperchen bewirkt (17).

Die vielberufene „Bluteindickung", von der in der Pathologie der Unterkühlung so häufig die Rede ist und die auf einen Übertritt von Wasser ins Gewebe zurückgeführt wurde (24), ist praktisch nur auf Rechnung der Erythrocytenvermehrung zu setzen, denn die Zunahme der Blutviskosität bei Abkühlung ist, wie Seelkopf (25) an unserem Institut fand, sehr geringfügig, in vivo noch geringer, als bei Abkühlung des Blutes in vitro.

Wie uns zuerst an tödlich abgekühlten Tieren auffiel, steht die Kontraktion der Milz im vielsagenden Gegensatz zu der bekannten Blutfülle der meisten inneren Organe, die ihrerseits als passive Folge der peripheren Vasokonstriktion aufgefaßt wird. Die Entspeicherung der Milz setzt sich also anscheinend gegen die Tendenz der zentripetalen Blutverschiebung durch. Das Ziel, dem die Milzkontraktion dient, hat offenbar den Vorrang vor der zentripetalen Blutverschiebung — es ist mit der höheren Dringlichkeitsstufe ausgestattet.

Wie steht es nun mit der Bewertung dieser Vorgänge sub spezie der Todesursache? Wenn wir annehmen dürfen, daß die Zunahme der Erythrocyten und die Milzkontraktion Abwehrmaßnahmen darstellen, die

im Bereich der erfolgreichen Kälteabwehr nicht auftreten, sondern erst beim Absinken der Körpertemperatur, so unterscheiden sich diese Erscheinungen von für uns uninteressanten, z. B. hormonalen Regulationsmaßnahmen jedenfalls insofern grundsätzlich, als sie nicht mehr der Aufrechterhaltung der Wärme, sondern bereits nur noch dem Schutz gegen die Kälte selbst dienen können. Genauer gesagt, es kann ihr Zweck nur darin bestehen, daß durch sie bereits eingetretene Wirkungen der Kälte unschädlich gemacht werden sollen. Wir haben es hier also bereits mit dem „inneren Verteidigungsring" zu tun und müssen daher den letzterwähnten Befunden besonders hohe Bedeutung als Indizien zuerkennen. In welche Richtung sie deuten, kann kaum zweifelhaft sein, wenn wir an das Auftreten der gleichen Erscheinungen nach Einwirkung von CO und anderen Umständen denken, die die Sauerstoffversorgung bedrohen. Dort verstehen wir sie zwanglos als Maßnahmen zum Ersatz unbrauchbar gewordenen Hämoglobins, zur Vergrößerung der respiratorischen Oberfläche des Blutes. Zusammen mit einer Vergrößerung der Blutumlaufgeschwindigkeit bewirken sie bei allen Zuständen von O_2-Mangel das Heranbringen von mehr Sauerstoffmolekülen in der Zeiteinheit. Die Veränderungen des Blutbildes haben denn auch den stärksten Anlaß zu der Vermutung abgegeben, daß beim Kältetod O_2-Mangel eine Rolle spielen müsse. Daß er jedoch die Hauptursache des Kältetodes ist, wurde trotzdem nicht vermutet, solange man dessen Erklärung noch in handgreiflicheren Ursachen finden zu können meinte. Auf diese müssen wir daher noch eingehen, bevor wir uns in Teil II der Frage des O_2-Mangels endgültig zuwenden können.

Kühlt man Tiere durch Bäder bis zum Tode ab, so ergibt sich im äußeren Bilde der Erscheinungen ein zweiphasischer Verlauf, der schon von den älteren Autoren erschöpfend beschrieben wurde (1) (11). Auf ein anfängliches Stadium der Erregung folgt ohne scharfe Grenze ein „Periode zunehmender Paralyse", die Winternitz (1) bei etwa 34—31° C beginnen läßt und welche nach ihm schließlich (bei etwa 22—19° C) mit der „terminalen Lähmung der lebenswichtigen Zentren"* endet. In der Tat ist dieser allmähliche Übergang von anfänglich gesteigerter Reflexerregbarkeit zu einer schließlich vollständigen Aufhebung der Reflexe mit Bewegungs- und Empfindungslosigkeit sehr eindrucksvoll. Vor allem ist die terminale Verlangsamung und Abflachung der Atmung so imponierend, daß man es versteht, wenn nicht nur ältere Autoren, sondern auch neuere Forscher den Kältetod durch allgemeine Lähmung der vegetativen Zentren, insbesondere durch Atemlähmung, erklären. Sieht man,

* Auch in den neuesten inzwischen erschienenen Arbeiten von Grosse-Brockhoff (41) über die Unterkühlung wird diese Ansicht über die Ursache des akuten Kältetodes vertreten; danach steht „neben Störungen von Reizbildung und Reizleitung am Herzen die fortschreitende Lähmung lebenswichtiger Zentren des Zentralnervensystems im Vordergrund".

wie zuletzt nur noch in Abständen von 15, ja 30 und noch mehr Sekunden ein kaum noch wahrnehmbarer Atemzug erfolgt und diese vita minima ganz allmählich und symptomlos erlischt, während kraftlose Herzschläge die Atmung noch häufig überdauern, so meint man leicht selbst, mit der Diagnose der Atemlähmung lediglich einen Tatbestand beschrieben zu haben. Denkt man sich dann in die Lage des Arztes, der einen Abgekühlten in diesem Zustand zu Gesicht bekommt, so fühlt man die Assoziationen „künstliche Atmung, Lobelin, Analeptika" sozusagen zwangsläufig in sich aufsteigen, obwohl wir aus neueren Untersuchungen [Jarisch (8) (9)] wissen, daß im Zustand der Abkühlung die Toxizität der meisten Analeptika erhöht, ihre letale Dosis also merklich vermindert ist. Es ist versucht worden, diese Giftigkeitssteigerung durch die vasokonstriktorisch bedingte Verminderung der zirkulierenden Blutmenge bzw. durch das derart erklärliche Zustandekommen einer höheren Giftkonzentration im Blute zu erklären. Da aber die therapeutische Breite der Analeptika vermindert ist, so werden wir uns nach einer anderen Erklärung dieses Befundes umsehen müssen.

Wie bereits erwähnt, glaubten anfänglich auch wir in der terminalen Atemlähmung die letzte Todesursache vor uns zu haben. Da sie durch unmittelbare Wirkung der Kälte bedingt schien, so war uns auch ein damals diskutierter Vorschlag plausibel, der dahin ging, daß man versuchen sollte, die darniederliegende und durch Stimulantien nicht mehr beeinflußbare Atmung bedrohlich Abgekühlter durch Diathermie bzw. Kurzwellenbehandlung der medulla zu beleben [siehe auch König (26)]. Wir stellten damals an Katzen in Pernoctonnarkose derartige Versuche an, hatten aber den Versuchsplan von vornherein dadurch erweitert, daß wir gleichzeitig die Blutgase sowie den O_2-Verbrauch bestimmten.

Zur Methodik dieser und folgender Versuche: Als Versuchstiere dienten hauptsächlich Katzen, daneben in einigen Versuchen Kaninchen. Als Narkoticum Pernocton 0,5—0,6 ccm/kg. Abkühlung der Tiere nach Scheren des Haarpelzes durch Wasserberieselung und Ventilator, Messung der Rectaltemperatur, gegebenenfalls der Kopftemperatur (thermometrisch in den Pausen zwischen der KW-Anwendung).

Bestimmung der Alkalireserve oder der Gesamt-CO_2 nach Van Slyke mit der Modifikation, daß die Bestimmung der CO_2-Bindungsfähigkeit durch Sättigung mit 40 mm CO_2 bei der jeweiligen Rectaltemperatur erfolgte.

Soweit Messungen des p_H vorgenommen wurden, benutzten wir dazu eine niederohmige Schott-Glaselektrode, 1 ccm Blut wurde zu diesem Zweck innerhalb des hermetisch schließenden Elektrodengefäßes mit 3 ccm CO_2-freier NaCl-Lösung verdünnt.

Berechnung von p_{CO_2} graphisch nach Van Slyke und Sendroy (27).

Bestimmung der venösen O_2-Sättigung durch Mischfarbenkolorimetrie nach Holló und Weiss (28), wie in anderen unserer Arbeiten beschrieben (29) (30) mit 0,5 ccm Blut.

Bestimmung des O_2-Verbrauchs mit Spirometer aus Papier, wie wir solche sonst nach dem Vorbild von Müller (31) in allen Größen zu plethysmographischen Zwecken verwenden. Füllung des Spirometers mit O_2, Atmung über Gildemeister-

Ventile mit 2—3 mm H_2O-Widerstand. O_2-Verbrauch auf Rußkurve registriert (obligatorisch), dazu in einigen Fällen auch Blutdruckschreibung.

Bestimmung der Reduktionszeit an der Zunge nach v. Werz und Reiter (19) (30).

Handelt es sich bei Kältetod um eine echte Lähmung des Atemzentrums, so mußte dessen verminderte Erregbarkeit gegenüber dem adäquaten Reiz in einer Zunahme der Blutkohlensäure zum Ausdruck kommen.

Dies war nun, wie die Wiedergabe eines solchen Versuches erkennen läßt (Tabelle 1) nicht der Fall, vielmehr bewegte sich der Gesamt-CO_2-Gehalt des Venenblutes trotz der möglicherweise denkbaren Addition von Pernocton- und Kältewirkung meist in dem bei Katzen noch normalen Rahmen, d. h. er stieg in der Phase terminal verminderter Atmung nicht entfernt so hoch an, wie man es beim Vorliegen einer echten Atemlähmung erwarten müßte!

Tabelle 1.

Temperatur (rectal)	CO_2-Vol.% (Gesamt)	p_{CO_2} mm	O_2-Verbrauch ccm/Min.	Atemfrequenz	p_H Blut	% O_2-Hb Ven.
37°	40,2	59	23	18	7,08	71,5
27	41,9	66	23	8	7,05	72,5
23	43,0	76	13	5	6,99	78,5
21	43,0	—	6	2	—	81,0

Auch der aus dem zugehörigen p_H-Wert und Gesamt-CO_2 berechnete p_{CO_2} steigt nur von 60 mm vor Abkühlung auf 76 mm bei 23°, obwohl die Atemfrequenz von 18 immerhin schon auf 5 pro Minute gefallen war. Das gleiche Ergebnis hatten auch andere Versuche, bei denen die Gesamt-CO_2 in noch späteren Stadien bestimmt wurde (siehe z. B. die Versuche Abb. 4 und 5). Hingegen fanden sich umgekehrt in der Phase gesteigerten Stoffwechsels und gesteigerter Reflexerregbarkeit überwiegend erniedrigte Werte der Gesamt-CO_2.

Die Verminderung der gebundenen CO_2 („Alkalireserve") haben wir im Gegensatz zu Staemmler (22), der an Kaninchen arbeitete, nur selten und dann wenig ausgeprägt gefunden*. Hierbei ist allerdings zu berücksichtigen, daß wir das Plasma nicht bei 37° C, sondern bei der jeweiligen Rectaltemperatur mit 40 mm CO_2 gesättigt haben, um die „wahre" CO_2-Bindungsfähigkeit zu erhalten. Diese nimmt aber mit sinkender Temperatur zu, was nicht nur auf der erhöhten Löslichkeit der CO_2, sondern auf Beeinflussung der Plasmakolloide beruht (20).

Aus alledem folgt also, daß die abnorme Verlangsamung der Atmung nicht auf einer Erhöhung der Reizschwelle beruht, sondern mindestens zum überwiegenden Teil durch das Darniederliegen der CO_2-Produktion bedingt ist.

Da wir nicht wenige Tiere sahen, bei denen p_H bis zum Tode kaum verändert war und die überhaupt vorkommenden Abnahmen sich über-

* Mit unseren Ergebnissen stimmen, wie wir nachträglich fanden, die Befunde von Silvette und Britten [Ber. 69, 94 (1932)] überein. Sie beziehen sich auf Katzen, Opossum und Murmeltiere.

wiegend in relativ engen Grenzen bewegten, so kann man jedenfalls allgemein sagen, daß das Atemzentrum seine Aufgabe bis zuletzt bemerkenswert gut erfüllt, so daß die Abnahme der Atmung praktisch ganz auf die Drosselung des Stoffwechsels zurückgeführt werden muß. In der Tat sinkt dieser, wie die wiedergegebenen Versuchsbeispiele erkennen lassen, bei tiefen Körpertemperaturen schließlich auf Werte ab, die oft schon innerhalb der Fehlerbreite der Methode liegen.

Zu diesem Ergebnis gelangten wir in Wirklichkeit freilich nicht so glatt, denn in zwei Fällen kam es, abweichend von der obigen Darstellung, doch zu einem prämortalen Ansteigen der CO_2 im Blute bei sinkendem p_H (s. Abb. 5 auf S. 577). Kurze künstliche Atmung brachte dabei jedoch die Spontanatmung wieder in Gang. Dies ist, wie Lutz (6) in systematischen Versuchen inzwischen bewies, beim echten Kältetod niemals möglich.

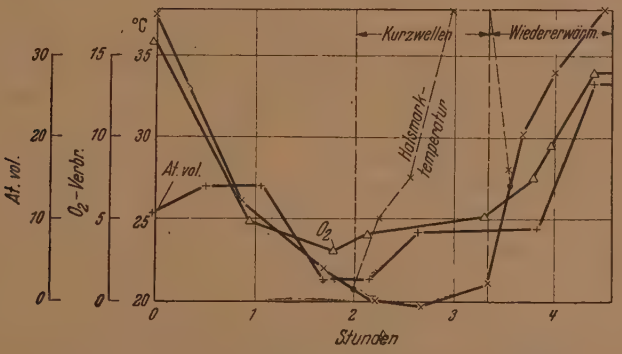


Abb. 2. Wirkung isolierter Halsmark-Erwärmung auf die Atmung im Vergleich zur Wirkung der Gesamterwärmung.
Zeichenerklärung: ×—× = Rectaltemperatur, ×- - -× = Kopftemperatur (Halsmark)
Δ—Δ = O_2-Verbrauch, +—+ = Atemvolumen.

Tatsächlich handelt es sich in diesen Fällen, wie später dargelegt wird, um einen atypischen (Herz-)Tod, der bei der Katze ebenso wie das Lungenödem des Meerschweinchens als interkurrentes Ereignis aufzufassen ist, so daß es uns schließlich möglich war, ihn vom eigentlichen Kältetod begrifflich zu trennen. Auf den Mechanismus dieser Ereignisse wird erst bei Erörterung des Kreislaufs einzugehen sein (s. S. 573).

Daß es sich beim Kältetod nicht um eine echte Atemlähmung handelt, wird bestätigt durch das negative Ergebnis der Versuche mit isolierter Halsmarkerwärmung: Behandelt man bei tief abgekühlten Tieren mit stark verminderter Atmung das Halsmark vorsichtig mit KW und nähert dessen Temperatur damit rasch der Norm, so nimmt die Atmung davon kaum Notiz; hingegen steigt das Atemvolumen sofort mächtig an, sobald der ganze Körper des Tieres erwärmt wird. Erst jetzt flutet CO_2 wieder in nennenswerten Mengen heran und erreicht auf dem Blutwege das, was die rein örtliche Stoffwechselsteigerung im Atemzentrum selbst nur unzulänglich vermöchte (s. Abb. 2). Die heute noch anerkannte Ansicht

von Winternitz, derzufolge „kein Zweifel bestehen kann, daß der Respirationsstillstand als Folge der Durchkühlung des Respirationszentrums aufzufassen ist", können wir also nicht mehr ohne weiteres anerkennen.

Zunächst ergibt sich also aus beiden Versuchsreihen, daß der Kältetod nicht auf einer Lähmung des Atemzentrums im gewöhnlichen Sinne beruht. Die verminderte Atmung Abgekühlter ist daher nicht schlechtweg als pathologische Erscheinung zu bewerten, sondern sie entspricht bei niedrigen Temperaturen zunächst jeweils dem Stoffwechsel. Erst im zweiten Abschnitt der Arbeit wird uns die Erkenntnis, daß der Stoffwechsel zuletzt seinerseits über die Kältedrosselung hinaus durch O_2-Mangel begrenzt ist, ein tieferes Verständnis der Atmungsveränderungen eröffnen. Wir werden dann sehen, daß der Atemstillstand beim Kältetod durch Anoxie bedingt ist, wodurch sich auch seine Unbeeinflußbarkeit durch pharmakologische Maßnahmen und seine geringe Beeinflußbarkeit durch bloße lokale Erwärmung erklärt.

Ohne diesen Ergebnissen hier vorzugreifen, können wir jedoch schon jetzt feststellen, daß eine Behandlung Ausgekühlter mit atmungserregenden Mitteln in der Tat abwegig ist. Sofern der CO_2-Spiegel normal ist, müßte sie zu bedrohlicher Hypokapnie führen, um so mehr, als anfänglich ohnehin eine Neigung zu erhöhter Erregbarkeit des Atemzentrums besteht, die unseres Erachtens selbst schon hypoxisch bedingt ist.

Nach Dill und Forbes (20) ist beim Menschen bis herab zu 27,8° das AV stärker erhöht, als der Zunahme des O_2-Verbrauchs entspricht, es besteht also in diesem Temperaturbereich auch beim Menschen Hyperventilation.

Eine wirksame Beeinflussung der Atmung ist also nur auf „physiologischem" Wege möglich, und zwar durch Wiederherstellung der CO_2-Produktion mittels möglichst energischer Wiedererwärmung des Gesamtkörpers nach Weltz und Mitarbeitern (5).

Die Widerlegung des Augenscheins, nach welchem man den Kältetod als Lähmungserscheinung auffassen möchte, war für unsere Auffassung des Kältetodes folgenschwer, denn das Atemzentrum kann ja sozusagen als „pars pro toto" für jede Körperzelle angesehen werden, an ihm war die Nachprüfung der Lähmungstheorie nur besonders leicht durchführbar gewesen. Aus ihrer Ablehnung folgte aber nunmehr implizit, daß der Kältetod auch nicht durch Lähmung anderer Organfunktionen erklärt werden kann. Insbesondere konnte nach obigen Erfahrungen auch von einem Versagen des Kreislaufs, in dem viele die Ursache des Kältetodes erblicken möchten, nicht mehr unbefangen gesprochen werden, ehe nicht analog bewiesen war, daß das Minutenvolumen eine unverhältnismäßige Minderung erfährt, d. h. stärker vermindert ist, als es dem Stoffwechsel entspricht! Denn wie bei der Beurteilung der Atmung gilt ja auch für den Kreislauf, daß es gänzlich ungerechtfertigt wäre, an seine Leistung den Maßstab der Norm anzulegen! Je mehr wir vielmehr durchdrungen sind von der Einsicht, daß der Kreislauf nur im

Dienste des Stoffwechsels steht, desto mehr müßte es uns umgekehrt wundern, wenn wir in der Kälte den Kreislauf nicht entsprechend eingeschränkt fänden! Denn warum sollte er gerade in einer Situation, wo alles auf Sparsamkeit ankommen muß, mehr leisten, als unbedingt erforderlich ist, und zwar erforderlich von seiten des „höchsten Selbstzwecks", des Stoffwechsels? Unter diesem Gesichtspunkt fanden wir es z. B. erstaunlich, daß der Blutdruck, wie bekannt (1), bis in die agonale Phase hinein hoch bleibt. Auch hierbei befriedigte uns die übliche mechanische Erklärung, daß dies eine Folge der peripheren Kältekonstriktion sei, nur wenig; zweifelten wir doch nicht, daß der Organismus den Blutdruck trotzdem niedrig halten könnte, wenn ein niedrigerer Blutdruck für ihn sinnvoller wäre! Aber schon die einfache Probe der Vagusausschaltung, die wir in einigen Versuchen anstellten, zeitigte, wie schon Winternitz angibt, keine Zunahme der Herzfrequenz und machte es damit unwahrscheinlich, daß im Zustand der Abkühlung depressorische Zentren tonisch stärker erregt sind. Sehen wir also einerseits keine Veranlassung, an der Suffizienz des Kreislaufs zu zweifeln, so bestärkt uns in unserer Auffassung vollends das fast immer zu beobachtende Überleben des Herzens über die Atmung [Winternitz (1), sowie besonders Lutz (6)]. Dazu kommt aber vollends, daß das Blut beim Kältetod hellrot gefunden wird, eine Tatsache, die schon von älteren Autoren (32) gegen die mögliche Annahme eines Kreislaufversagens ins Feld geführt worden ist.

Unter dem Eindruck aller dieser Tatsachen waren wir denn schließlich imstande, den zweiten großen „Filtrationsgang" abzuschließen und ein primäres Versagen nicht nur der Atmung, sondern auch des Kreislaufs, sei es „unter dem Bilde einer Herzinsuffizienz", sei es unter dem des Kollapses, als letzte Erklärung für den Kältetod unserer Versuchstiere abzulehnen. Mit dem Ausschalten dieser Annahmen verengte sich die Fragestellung wieder um ein sehr Erhebliches.

Nunmehr erst bekamen wir das eigentliche Problem zu Gesicht, die Frage, warum denn das Tier überhaupt stirbt, wenn die Wirkung der Kälte nur in einer stetig zunehmenden, generellen Drosselung der cellulären Funktionen besteht? Denn man muß sich klar machen, daß letzten Endes selbst der geringste Rest von Atmung, sofern er überhaupt noch etwas mehr als nur Pendelluft des Totraumes bewegt, nicht unvereinbar mit dem Fortbestand des Lebens zu sein braucht, sofern auch die Verbrauchsseite in gleichem Maße auf Sparstellung geschaltet ist!

In diesem Stadium der Versuche füllten wir in Ermangelung einer besseren Erklärung die leere Stelle gern mit einem Bild aus, das sich dem Vergleich darbot: Das Bild des Benzinmotors, dessen Tourenzahl man weitgehend, aber nicht unbegrenzt drosseln kann, ohne daß er „stirbt". Dies erfolgt, sobald die zugeführte Energie unter die „fixen Kosten" des

Betriebes sinkt, wie sie durch den Reibungswiderstand gegeben sind. Nun bestimmt die fixen Kosten im Körper z. B. das Herz, aber auch die Niere, das Gehirn usw., auf die alle das Herz für die Dauer angewiesen bleibt.

Und doch beinhaltet auch diese Vorstellung noch keinen zwingenden Grund für ein Erlöschen des Lebens! Denn wenn die Niere, das Gehirn, „auf Eis gelegt", einen Kreislauf nicht mehr brauchen, so steht der Möglichkeit eines Lebens jenseits jeder „vita minima", eines Lebens sozusagen auf Limes Null, keine Denkunmöglichkeit mehr entgegen! Der Begriff des Scheintodes ist ungeeignet, diesen Inhalt wiederzugeben, denn ein Tod, der nur so scheint, ist Leben; wir aber meinen einen Zustand, der buchstäblich dazwischenliegt, einen Dornröschenschlaf der Zellen, in dem der Film des Lebens angehalten wäre!

Diese scheinbar paradoxe Vorstellung eines „reversiblen Todes" in experimentelle Wirklichkeit übersetzt zu haben, ist das Verdienst von Lutz (6), dessen gleichzeitig erscheinender Arbeit wir hier nicht vorgreifen wollen. Für den gegenwärtigen Zweck genügt es, den Kern dieser Überlegungen festzuhalten, der folgendes beinhaltet: Da der Kältetod nicht auf einer Lähmung beruht, so ist bis jetzt nicht einzusehen, woran überhaupt die Tiere zugrunde gehen. Denn eine alle Funktionen gleichmäßig betreffende Drosselung (= Verlangsamung) kann an sich noch nicht zum Tode führen. Infolgedessen bleibt nur die Vermutung übrig, daß die Verlangsamung der Lebensfunktionen durch die Kälte keine gleichmäßige, „harmonische" ist, sondern daß einzelne Teilprozesse stärker als andere verlangsamt werden, so daß ihr Ineinandergreifen fundamental gestört wird. Die Frage lief also immer mehr auf eine vergleichende Sichtung von Temperaturkoeffizienten hinaus. Und da ein Auseinanderklaffen verschiedener Organfunktionen offensichtlich nicht stattfindet, wie auch Lucke (3) dies zugibt, so mußte es sozusagen auf tieferer Ebene, im Bereich des Stoffwechsels also, gesucht werden.

Tatsächlich sind in neuester Zeit eine Reihe von Untersuchungen ausgeführt worden, die beweisen, daß in der Kälte verschiedene experimentell faßbare Fermentprozesse, wie etwa die Milchsäurebildung aus Glykogen oder die Phosphorylierungsvorgänge im Muskel, gehemmt sind. Derartige Feststellungen werden sich vermutlich beliebig vermehren lassen. Für die uns allein beschäftigende Frage der Todesursache sind sie vorläufig belanglos, denn die Verlangsamung und Hemmung von Stoffwechselvorgängen durch Kälte folgt ja schon aus der Herabsetzung des Gesamtstoffwechsels, die keines weiteres Beweises mehr bedarf. Also könnte der Nachweis einer Teilstörung nur dann Interesse beanspruchen, wenn wahrscheinlich gemacht werden kann, daß gerade sie einen primären Angriffspunkt der Kälte darstellt, so daß die schon seit Pflüger bekannte Abnahme des O_2-Verbrauchs sich als ihre Folge erklären ließe! Die wenigen derzeit experimentell faßbaren Teilprozesse des intermediären Zellstoffwechsels daraufhin zu untersuchen, war aber nicht unsere Absicht, solange nicht alle Indizien, die das physiologische Bild des Kältetodes liefert,

gedanklich erschöpfend verwertet waren. Von einer solchen Erschöpfung ihres Erklärungswertes konnte jedoch keineswegs die Rede sein.

Im voranstehenden Teil haben wir eine weitgehende Einengung des Problems vornehmen können; als nicht belangvoll für eine Erklärung des akuten Kältetodes schieden wir — da sie nicht obligatorisch sind — neben dem Lungenödem und allen sonst etwa gefundenen Lungenveränderungen zunächst die große Gruppe aller hormonalen Regulationsvorgänge, insbesondere mit langsamer Anlaufszeit, aus, sowie die nicht minder umfangreiche Gruppe der auf eine (hormonale oder auch energetische) Erschöpfung hinweisenden Befunde.

Auch den bisher aufgezeigten Hemmungen von Fermentprozessen mußten wir mit wenigen Ausnahmen unser unmittelbares Interesse versagen, da sie für die Herabsetzung des Gesamtstoffwechsels keine Erklärung zu bieten vermochten, sondern nur als ein zufälliger Ausdruck der Stoffwechselsenkung erschienen. Und schließlich konnten wir in einem letzten Einengungsgang die Bahn vollends freimachen, indem wir alle wie immer gearteten „banalen" Lähmungstheorien, sei es für das Zentralnervensystem bzw. die Atmung, sei es für Herz und Kreislauf, über Bord warfen, als wir erkannten, daß die bestehende Leistungsminderung dieser Funktionen, die bisher überwertet worden ist, nicht an einer fiktiven „Norm", sondern nur am jeweiligen Bedarf, d. h. aber an den Forderungen des herabgesetzten Stoffwechsels gemessen werden darf. Indem wir so versuchten, den richtigen Maßstab an die Erscheinungen anzulegen und dadurch manche anfangs so eindrucksvolle Abweichung auf ihre wahre Bedeutung reduzieren konnten, verblieb uns als positiv verwertbarer „Rückstand" eine Anzahl von Erscheinungen, wie die Erythrocytenzunahme, die Milzverkleinerung, Hyperglykämie und Lactacidämie, nebst den eingangs erwähnten histologischen Schädigungen. Weil sie erst auftreten, wenn die Körpertemperatur tatsächlich gesunken ist, hatten wir ihnen vor anderen Erscheinungen schon früher einen Vorrang zuerkannt. Sie gehören u. E. zur inneren Verteidigungslinie des Organismus, so daß wir bereit waren, sie entweder als direkte Kältewirkungen oder mindestens als gegen die drohenden Kältefolgen unmittelbar gerichtete Kompensationsmaßnahmen 2. Ordnung (im Gegensatz zu den „prophylaktischen" Regulationen 1. Ordnung des Wärmehaushalts) anzusehen.

II.* Die Rolle des Hämoglobins beim Abkühlungstod: Die „Sauerstoffschere".

Es ist nun an der Zeit, das Verhalten eines Faktors zu besprechen, der in unseren Überlegungen um so stärker hervortrat, je mehr die anderen Faktoren an ätiologischer Bedeutung zurücktreten mußten. Es ist dies das Verhalten des Blutsauerstoffs.

* Unter Benutzung eines Diskussionsvortrags anläßlich der Tagung „Seenot-Winternot" der LW., November 1942 in Nürnberg.

Bereits aus den in Tabelle 1 wiedergegebenen Versuchsdaten war zu ersehen, daß die Sättigung des venösen Blutes dort eine ansteigende Tendenz zeigt.

Abb. 3 gibt eine Gesamtübersicht dieses Versuchs und läßt erkennen, daß die venöse O_2-Sättigung diese steigende Tendenz wirklich bis zuletzt beibehält. Bei einer Rectaltemperatur von 21° erreicht der O_2-Gehalt des venösen Blutes eine Sättigung von 81 %.

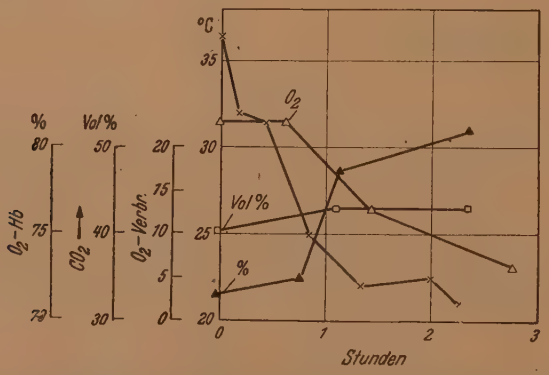


Abb. 3. Steigende O_2-Sättigung des Venenblutes (▲—▲) bei Auskühlung: Katze Pernocton. ×—× = Rectaltemperatur, Δ—Δ = O_2-Verbrauch, □—□ = Blutkohlensäure.

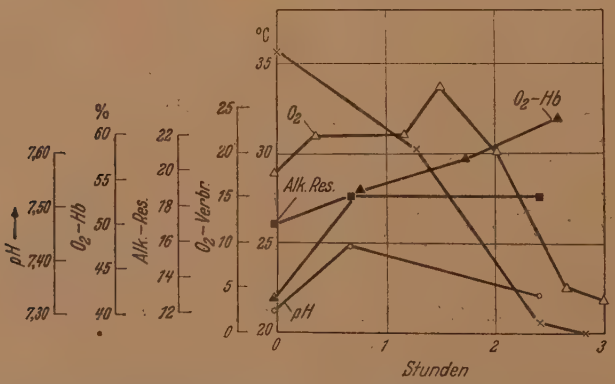


Abb. 4. Typisches Verhalten von O_2-Sättigung des Venenblutes (▲—▲) und O_2-Verbrauch (Δ—Δ). ■—■ = Alkalireserve, o—o = p_H, ×—× = Rectaltemperatur.

In diesem Falle erfuhr der Stoffwechsel ausnahmsweise keine Steigerung, was auf die wegen starker motorischer Unruhe erforderliche tiefe Narkose (33), sowie auf den rapiden Gang der Abkühlung zurückzuführen ist. Kuraresierten Tieren fehlt bekanntlich die regulatorische Stoffwechselsteigerung ganz.

Ein gleiches Verhalten der O_2-Sättigung zeigt der Versuch Abb. 4; obwohl die Körpertemperatur schon zu Beginn des Versuchs etwas er-

niedrigt ist, der Stoffwechsel also vermutlich von Anbeginn ab erhöht ist, steigt der O_2-Verbrauch mit dem Einsetzen der erzwungenen Abkühlung noch stark an und entsprechend dem langsamen Gang der Abkühlung bleibt er bemerkenswert lange erhöht. Erst ab etwa 23° sinkt dann der O_2-Verbrauch rapide ab. [Dill und Forbes (20) fanden am Menschen den O_2-Verbrauch gleichfalls noch bei niedrigen Temperaturen hoch, manchmal bestand bei Temperaturen von 30° noch eine Erhöhung um 50 %.] Während die Alkalireserve in diesem Versuch keine nennenswerte Veränderung erfährt und p_H im Stadium der erhöhten Erregbarkeit vorübergehend sogar eine erhebliche Verschiebung nach der alkalischen Seite zeigt — jedenfalls bis zuletzt keine „Acidose" erkennen läßt —, sehen wir allein die venöse O_2-Sättigung eine stetige und starke Ände-

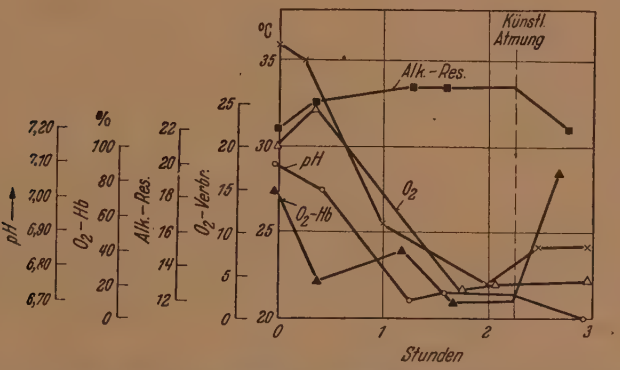


Abb. 5. Atypischer Verlauf bei Auskühlung. Abnehmende O_2-Sättigung und sinkendes p_H zufolge Kreislaufschwäche.

rung aufweisen: sie steigt von 40,5 % vor Beginn der Abkühlung auf 53 % bei 32° bzw. 58 % bei 26° und erreicht beim Tiefpunkt der Körpertemperatur von 20° den Wert 62 %!

Diesen Anstieg der O_2-Sättigung im Venenblut vermißten wir nur in wenigen Fällen. Einen solchen Ausnahmefall zeigt Abb. 5, wo es atypischerweise zu einem circulus vitiosus zwischen Kreislaufschwäche und Versagen des Atemzentrums kam. Dieser konnte aber durch kurze künstliche Atmung durchbrochen werden. In solchem Falle kündigte sich das sekundäre Versagen der Atmung in einem stetigen Anstieg der freien Blutkohlensäure an, wie aus der Abnahme von p_H bei gleichzeitig sogar etwas ansteigender Alkalireserve hervorgeht. Es hatte das Ansteigen der freien CO_2 „Alkali ins Blut gerufen" [Henderson (34)]. In diesem Falle sehen wir die venöse O_2-Sättigung trotz Abkühlung ausnahmsweise absinken, das Blut wurde schließlich (bei 23° Rectaltemperatur) dunkel. Deshalb wurde die Abkühlung abgebrochen und künstlich beatmet, wodurch sich der kritische Zustand überbrücken ließ: Unter Wiederbeginn

Tabelle 2. O_2-Sättigung des Venenblutes vor und nach Abkühlung.

% O_2-Hämoglobin$_{37^0}$		% O_2-Hämoglobin$_{t^0}$
71,5	Katze	81 (21°)
41	„	62 (20°)
52	„	84 (20°)
70	„	92 (20°)
38	Kaninchen	55 (23°)

der Spontanatmung und spontanem, langsamem Wiederanstieg der Temperatur erreichte die Sättigung bei 24° wieder 55 % und überstieg damit etwas den Ausgangswert.

In Tabelle 2 sind die Endsättigungen aus einigen weiteren Versuchen zusammengestellt und den Werten vor Beginn der Abkühlung gegenübergestellt. Es ergibt sich daraus, daß unter der Wirkung der Kälte die O_2-Sättigung des Venenblutes meistens höher liegt als bei normaler Temperatur.

Die Tierversuche stehen also in guter Übereinstimmung mit gewissen Beobachtungen der Pathologen über hellrote Totenflecke an den Leichen Erfrorener bzw. an Abkühlung zugrunde gegangener Menschen. Sie bestätigen aber auch Beobachtungen älterer Autoren, denen bei Abkühlungsversuchen gleichfalls schon das hellrote Aussehen des Venenblutes aufgefallen war [Quinquaud: „suroxydation progressive“ (35) sowie Geiger (19); aber sogar schon im Jahre 1880 beobachtete Velten (32) in seinen auf Anregung von Pflüger ausgeführten Versuchen „Über Oxydation im Warmblüter bei subnormalen Temperaturen“, daß das Blut der (kuraresierten und künstlich beatmeten) Kaninchen bei Abkühlung bis zuletzt hellrot blieb, „auch das Venenblut erschien heller, so daß von einer Störung des Kreislaufs ... oder verminderter Zufuhr von Sauerstoff ... die Verringerung der Oxydationen nicht abgeleitet werden kann“].

Mit dem Hinweis auf die hellrote Farbe des Venenblutes sehen wir also schon Pflüger-Velten ein Argument vorbringen, mit welchem man, wie wir sehen, noch in neuerer Zeit die „asphyktische“ Entstehungsweise der Abkühlungslactacidämie abgelehnt hat (19). Eine Revision dieses längstverjährten Urteils der Wissenschaft erscheint jedoch heute um so unausweichlicher geboten, als wir hier unseres Erachtens geradezu die Kernfrage des ganzen Abkühlungsproblems vor uns haben. Zu Pflügers Zeiten freilich konnte ihre Beantwortung nicht anders ausfallen, da die Abhängigkeit der Sauerstoffbindung des Hämoglobins von der Temperatur noch nicht quantitativ erkannt war. Immerhin machte Paul Bert schon 1878 die gelegentliche Beobachtung, daß Blut bei Zimmertemperatur und 15 mm Sauerstoffdruck zu 90 % gesättigt ist, während es bei Körpertemperatur nur zu 50 % gesättigt war. Abgesehen von Hüfner, der 1889 noch einige ähnliche Beobachtungen anstellte, griff besonders Barcroft (36) im 1. Jahrzehnt dieses Jahrhunderts dieses Thema systematisch auf, nachdem die Entwicklung besserer Methoden diese Fragen inzwischen lösbar gemacht hatte.

Seither wissen wir, daß die Geschwindigkeit der Reaktion

$$HbO_2 \rightarrow Hb + O_2$$

in hohem Maße von der Temperatur abhängig ist. Ihr Temperaturkoeffizient beträgt je nach der angewandten Bestimmungsmethode (36) etwa 3 bis 5, im Gegensatz dazu ist die Aufnahme von Sauerstoff durch Hämoglobin, die Reaktion

$$Hb + O_2 \rightarrow HbO_2,$$

praktisch unabhängig von der Temperatur; deshalb wird die Gleichgewichtskonstante der Reaktion

$$HbO_2 \rightleftarrows Hb + O_2$$

ausschließlich durch den temperaturempfindlichen Reduktionsvorgang bestimmt, so daß sie denselben Temperaturkoeffizienten wie diese aufweist. Diese Verlangsamung der O_2-Abspaltung gegenüber der Aufnahme bedingt es, daß, wie bekannt, zur Erreichung einer bestimmten Sättigung um so geringere O_2-Drucke ausreichen, je niedriger die Temperatur ist. Für menschliches Hämoglobin werden z. B. von Macela und Seliskar (37) folgende Werte angegeben:

Tabelle 3.

Temperatur °C	O_2-Druck, bei welchem das Hb zu 50% gesättigt ist mm
15	0,3
25	1,5
35	7,5

Danach sinkt also für je 10° Temperaturerniedrigung der O_2-Druck, mit dem das Hämoglobin im Gleichgewicht steht, auf rund ein Fünftel.

[Da außer der Temperatur bekanntlich p_{CO_2} bzw. p_H einen starken Einfluß auf die O_2-Bindung ausübt („Bohreffekt"), können maßgebende Bindungskurven für konstantes p_H nicht an Blut, sondern nur an entsprechend gepufferten — bicarbonatfreien — Hb-Lösungen oder Erythrocytensuspensionen gewonnen werden.]

Es ist naheliegend, daß diese Tatsachen eine große Bedeutung für den Warmblüterorganismus haben müssen, wenn sich seine Temperatur stark ändert. Insbesondere werden wir unter den Verhältnissen extrem erniedrigter Körpertemperaturen aus der Tatsache hoher Sauerstoffsättigung des Blutes nicht mehr, wie dies früher geschehen ist (19) (32), ohne weiteres auf gute Sauerstoffversorgung der Gewebe schließen dürfen. Vielmehr drängt die Erkenntnis dieser Tatsachen uns heute die Frage auf, ob nicht bei Abkühlung das Blut gerade deshalb so hellrot ist, weil es seinen Sauerstoff nicht mehr in genügendem Umfang abgeben kann? Wie wir sahen, ist ja gerade der Reduktionsprozeß durch die Kälte verlangsamt bzw. bedeuten die Zahlen der vorstehenden Tabelle, daß der an Hämoglobin gebundene Sauerstoff bei sinkender Temperatur in immer geringerem Umfang ausgenutzt werden kann. Angenommen etwa, der O_2-Druck in den Zellen des Gewebes betrage gerade 7,5 mm, so könnte bei 35° das Hb des Blutes theoretisch gerade noch bis 50% reduziert, also die Hälfte seiner Kapazität ausgenutzt

werden, während bei 25° der Reduktionsvorgang schon bei viel höherer Sättigung stehenbleiben müßte. Erst wenn die O_2-Spannung in den Zellen selbst niedriger werden, also im Gewebe Sauerstoffmangel eintreten würde, könnte eine weitere Reduktion allmählich stattfinden.

Im Hinblick auf den Kältetod wäre es nun wichtig zu wissen, wie stark der Sauerstoffdruck des Blutes sinken darf, ohne daß die Versorgung der Gewebe Schaden leidet. Von Versuchen an Hefesuspensionen ist bekannt (38), daß Atmung noch bei sehr geringen O_2-Drucken stattfindet; der Sauerstoffdruck im Muskel scheint nach Versuchen von Verzár (39) Null oder nahe an Null zu betragen, aber schon bei der Speicheldrüse ist man zur Annahme höherer Drucke gezwungen und vollends für das Gehirn und Nervensystem, mit der höchsten Empfindlichkeit gegen O_2-Mangel, sind die O_2-Drucke, bei denen die Funktion erlischt, bisher nicht bekannt (40). Gilt dies schon für normale Körpertemperaturen, so ist erst recht nicht vorauszusagen, welche O_2-Drucke bei tieferen Temperaturen genügen könnten, wo der O_2-Bedarf bereits geringer ist. Läßt sich doch für eine gegebene Temperatur stets nur der Verbrauch an O_2 feststellen, von dem gerade entschieden werden soll (also nicht vorausgesetzt werden darf!), ob er den Bedarf deckt oder hinter ihm zurückbleibt, weil möglicherweise der O_2-Druck des Blutes nicht mehr ausreicht! Und dies gilt ganz besonders für jenen Temperaturbereich, wo der Stoffwechsel trotz des unmittelbar reaktionsverlangsamenden Kälteeinflusses noch regulatorisch erhöht ist, für die Schätzung des wahren Bedarfs also überhaupt kein zureichender Anhaltspunkt (Sollwert) vorliegt.

Schließlich wird die Frage nach der kritischen Grenze des Sauerstoffdrucks aber noch weiter erschwert durch die Komplikation mit dem Faktor Kreislauf. Von diesem hängt es ab, wieweit der im arteriellen Blut herrschende p_{CO_2} trotz der Entnahme der Gewebe lokal stationär gehalten werden kann und wieweit ein an sich unzureichendes Druckgefälle zwischen Blut und Zellen, eventuell durch Öffnung von zusätzlichen Kapillaren, d. h. Vergrößerung der Austauschfläche bzw. Verkürzung des Diffusionsweges für den Sauerstoff, wieder steiler gemacht werden kann (s. weiter unten sowie Abb. 8).

Die Frage, ob der hohe O_2-Gehalt des Venenblutes eine Folge der Stoffwechselerniedrigung ist oder ihre Ursache, erscheint uns deshalb für das Problem des Kältetodes so entscheidend, daß wir sie geradezu als den Angelpunkt des ganzen Abkühlungsproblems überhaupt bezeichnen möchten. Und doch ist gerade diese Entscheidung auf unmittelbarem Wege wohl überhaupt nicht zu treffen, da, wie sich ergibt, eine Bilanz von Angebot und Nachfrage (d. h. Bedarf) kaum aufgestellt werden kann. Dies wäre aber notwendig, um eine direkte Entscheidung darüber zu treffen, ob bei Abkühlung O_2-Mangel besteht oder nicht.

Der grundsätzliche Charakter dieser Schwierigkeit läßt es verständlich erscheinen, daß wir in der einschlägigen Literatur vergeblich eine stichhaltige Antwort auf diese Frage suchen. Auch da, wo auf den ersten Blick eine solche vorzuliegen schien, handelt es sich anscheinend nur um eine unverbindliche Äußerung, die die Beantwortung der entscheidenden Frage vorwegnimmt. In der verdienstlichen Arbeit von Killian (16) findet sich folgender Hinweis: „Einer neuen Beobachtung von Rein entsprechend (persönliche Mitteilung) verliert das Hämoglobin bei zunehmender Unterkühlung des Blutes allmählich seine Fähigkeit, Sauerstoff an die Gewebe abzugeben. Das zeitigt die schwersten Folgen, denn nunmehr besteht nicht nur in der Peripherie (wo Killian ohnehin O_2-Mangel infolge Ischämie annimmt), sondern mehr oder weniger allerorts im Körper die Möglichkeit zu schwersten Veränderungen des Gewebsstoffwechsels . . ."

Wenn uns auch die hier angezogene Äußerung leider nicht weiterführen kann, da sie in Ermangelung jeder Begründung keine Lösung unserer Grundfrage aufzeigt, so ist doch offenkundig, daß Killian selbst in vollem Umfang die Folgerungen überblickt, die sich aus einem Beweis für bestehenden O_2-Mangel hinsichtlich der Auffassung des Abkühlungszustandes ergeben müßten. Wären wir nämlich berechtigt, das Bestehen von O_2-Mangel als gesichert anzunehmen, so könnten wirklich so viele bisher zusammenhanglose Erscheinungen mit einem Schlage eine einheitliche Deutung finden, daß damit jedenfalls der wesentlichste Faktor im Mechanismus des Kältetodes, wo nicht dieser überhaupt, als aufgeklärt gelten dürfte. Die große Tragweite der O_2-Mangelhypothese scheint indessen den Forschern, die überhaupt eine Rolle des Hämoglobins bei der Abkühlung in Frage gezogen haben, nicht bewußt gewesen zu sein, sonst hätten sie neben der O_2-Mangelhypothese nicht gleichzeitig noch andere Erklärungsversuche des Kältetodes zu geben versucht wie Rein *, bei dem die Annahme einer Anoxie gegenüber der Bedeutung der zentralnervösen Störungen ganz zurücktritt; oder wie Dill und Forbes, die in ihren Versuchen an Menschen ein Sinken des O_2-Druckes zwar selbst aus Bindungskurven errechnen, statt der naheliegenden Schlußfolgerungen aber unvermittelt zu einer Hypothese übergehen (Erschwerung des Gasaustausches in der Lunge infolge Konsistenzzunahme der Membranlipoide in der Kälte), welche das errechnete Absinken der O_2-Spannung erst erklären soll! Wem andererseits die Tragweite der O_2-Mangelhypothese bewußt ist, der wird vor der Entscheidung dieser Grundfrage einstweilen jedes andere Problem als zweitrangig zurücktreten lassen. Denn nur auf dem Wege dieser unausweichlichen Entscheidung ist fortab ein Fortschritt in der Frage des Kältetodes denkbar.

Angesichts dieser offenen Frage nach der Bedeutung des Hämoglobins für den Kältetod nimmt es nicht Wunder, wenn sich die Pathologen selbständig nach Erklärungsmöglichkeiten anderer Art für jene histologischen Befunde umsehen, die von ihnen ausdrücklich auf eine „Hypoxydose" zurückgeführt werden. So ist es bezeichnend, daß selbst ein so guter Kenner des Abkühlungsproblems wie Büchner in seinem Übersichtsreferat über „die Pathologie der Unterkühlung" (13) abschließend schreibt: „Als Ursache einer solchen allgemeinen Hypoxydose kommt bei der Unterkühlung unter Umständen ein Kollaps in Betracht, wenn man annimmt, daß die durch die Kälte bewirkte konstriktorische Einengung der Kreislaufperipherie zuletzt in eine Lähmung des peripheren Kreislaufs übergeht. Auch ist zu bedenken, daß nach Rein bei der Unterkühlung mit einer erhöhten Dissoziation

* In den inzwischen erschienenen Arbeiten aus dem Göttinger Institut wird ausdrücklich festgestellt, „daß eine Anoxie nicht die primäre Ursache der Schädigung ist, die das schwere Zustandsbild beherrschen. Die Richtigkeit dieser Ansicht erhellt auch deutlich der Befund, daß Sauerstoffatmung keine Besserung herbeiführt", siehe auch Anm. S. 562 und S. 568.

des Hämoglobins zu rechnen ist. Schließlich kommen bei der Unterkühlung Störungen der Atmungsfermente als Ursache eines Sauerstoffmangels der Gewebe in Frage."

Wir sehen also, wie sehr auch die Pathologie der Abkühlung gefördert wäre, wenn wir ihr eine physiologisch stichhaltige Begründung für den von ihr geradezu geforderten Sauerstoffmangel geben könnten.

Wenden wir uns nunmehr wieder der zunehmenden Sättigung des Venenblutes zu, die den Ausgangspunkt unserer Überlegungen bildete. Daß sie etwa einen Kompensationsvorgang darstellt, ist ausgeschlossen, insbesondere ist sie nicht Folge einer Hyperventilation bzw. jener Steigerung der alveolaren O_2-Spannung, die Dill und Forbes bei der Abkühlung des Menschen direkt beobachtet haben. In unseren Versuchen atmeten die Tiere von vornherein 100 % O_2 aus dem Spirometer, so daß sich p_{O_2} alv. im Fortgang der Versuche höchstens verschlechtert haben könnte. Die Tendenz der zunehmenden O_2-Sättigung ist also Ausdruck verminderter Utilisation, sei nun diese gewebsseitig oder blutseitig, durch Minderung der Aufnahme oder Hemmung der Abgabe bedingt. Ist primär die Aufnahme eingeschränkt, so hat die erhöhte O_2-Sättigung keine weitere Bedeutung, als die der Anhäufung eines nicht verbrauchten Stoffwechselelements; ist andererseits der O_2-Verbrauch blutseitig begrenzt, so liegt zweifellos Sauerstoffmangel vor und es bleibt nur noch zu untersuchen, wieweit der zu geringe O_2-Druck durch den Anstieg der Sättigung eventuell ausgeglichen werden kann.

Tabelle 3 hatte gezeigt, daß der zu einer bestimmten Sättigung erforderliche Druck für gleichgroße Temperaturerniedrigung um jeweils etwa den gleichen Bruchteil sinkt. Tabelle 4 [nach Versuchen von Barcroft und King (42)] ergänzt sie und zeigt allgemeiner, daß Entsprechendes für jeden betrachteten Sättigungsgrad gilt:

Tabelle 4. mm O_2, die je Temperatur verschiedenen Sättigungen des Hb entsprechen (nach Barcroft und King).

Sättigung	14° C	26° C	32° C	38° C
90	5	24,5	33	72
80	3,5	17	26	49
64	2	12,5	17	31
50	—	8	12	21
40	—	7	11	18

Rechnet man nämlich diese Tabelle nach dem Vorgehen von Barcroft (41) derart um, daß man die bei 38° C herrschenden O_2-Drucke = 100 setzt und die zu niedrigen Temperaturen gehörigen Drucke in Prozenten des Normaldruckes umrechnet, so ergibt sich die bemerkenswerte Tatsache, daß der prozentuale Druckverlust für eine bestimmte Temperaturerniedrigung unabhängig von der Sättigung stets annähernd der

gleiche ist. Dadurch wird es aber möglich überschlagsmäßig zu berechnen, wie hoch p_{O_2} am Ende unserer Versuche gewesen ist. Dabei genügt es für den vorliegenden Zweck, wenn wir die zu den Sättigungswerten von Tabelle 2 gehörigen O_2-Drucke einer der bekannten Dissoziationskurven entnehmen.

Den Einfluß des p_H können wir zunächst außer Betracht lassen, und zwar um so eher, als sich in unseren Versuchen keine erheblichen, insbesondere keine systematischen Änderungen bei der Abkühlung gezeigt haben.

Tabelle 5
(Erweiterung von Tabelle 2).

Vers. Nr.	% Sättigung bei 37°	p_{O_2} bei 37° mm	% Sättigung nach Abkühlung	p_{O_2} bei 37° mm	$p_{O_2}t$	% Druckverlust	% O_2 Abn.
1	71,5	37	81 (21°)	51	11,2	30	32
3	41	17	62 (20°)	29	3,6	20	14
4	52	23	84 (20°)	57	10,8	47	16
9	70	35	92 (20°)	73	13,9	40	31
2*	38,5	17	55 (23°)	25	6,8	40	20

* Kaninchen; sonst durchweg Katzen.

Man ersieht daraus, daß trotz der erheblichen Zunahme der O_2-Sättigung durch die Abkühlung p_{O_2} noch sehr viel stärker gesunken ist (auf Werte von 14 bis 4 mm), wobei der Druckverlust 20 bis 47 % beträgt!

Während wir nun mit den absoluten Werten von $p_{O_2}t$ nicht viel anfangen können, da wir die kritischen Drucke nicht kennen, so wird ihre Bedeutung sofort klar, wenn wir der prozentualen Verminderung von p_{O_2} die gleichfalls in Prozenten des Ausgangswertes ausgedrückte Änderung des O_2-Verbrauchs gegenüberstellen: Wir sehen aus der letzten Spalte, daß zur gleichen Zeit auch der Stoffwechsel durchweg sehr stark erniedrigt ist, daß aber das Ausmaß seiner Abnahme im allgemeinen nicht an das der Druckabnahme heranreicht, vielmehr ist p_{O_2} mit einer Ausnahme bei diesen tiefen Temperaturen stets erheblich stärker gesenkt als der Stoffwechsel.

Vergleicht man also auf diese Weise die relativen Änderungen von O_2-Spannung und O_2-Verbrauch, so kann man die vordem aufgeworfene Frage beantworten in dem Sinne, daß die Sauerstoffdrucke im Blute zweifellos als ungenügend gelten müssen, wenn man sie an dem Bedarf des Stoffwechsels bemißt! Um die Erscheinungen in ihrer physiologischen Bedeutung richtig bewerten zu können, genügt also schon ein verhältnismäßig rohes Material an Beobachtungsdaten. Denn wenn auch die Berücksichtigung des p_H noch eine gewisse Korrektur der p_{O_2}-Werte bedingen sollte, so wäre eine Bemühung um allzu große Genauigkeit doch illusorisch angesichts des Umstandes, daß unser „Maßstab" selbst nur sehr grob ist, weil der Ausgangswert des O_2-Verbrauchs,

den wir als Maßeinheit ansetzten, ja nur ungefähr mit dem wirklichen „Grundumsatz" übereinstimmen dürfte; durch Narkose und unvermeidliche Abkühlung bzw. durch die gegen eine vorzeitige Abkühlung angewandten Maßnahmen wird er vielmehr in sehr vielen Fällen schon erhöht oder erniedrigt sein können.

Wir können nun unsere Betrachtungsweise auch auf dazwischenliegende mittlere Temperaturbereiche anwenden bzw. sie auf den ganzen Verlauf des Abkühlungsvorgangs ausdehnen. Dies geschieht graphisch in Abb. 6.

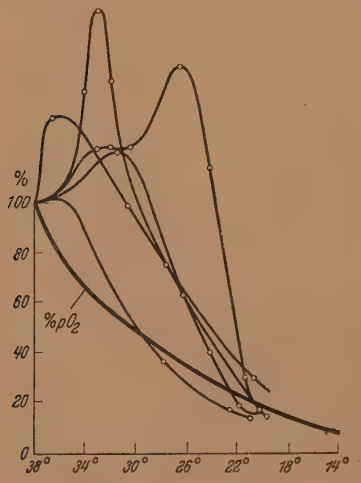


Abb. 6. Die Sauerstoffschere. Prozentuale Änderung von O_2-Druck und -Verbrauch mit der Temperatur. p_{O_2} (dicke Linie) nach Mittelwerten von Barcroft. O_2-Verbrauch (dünne Linien) nach Versuchen an Pernocton-Katzen.

Die dick ausgezogene Linie stellt die prozentuale Erniedrigung des Sauerstoffdrucks einer Hb-Lösung in Abhängigkeit von der Körpertemperatur dar. Sie ist gezeichnet nach den Mittelwerten der in Tabelle 4 bereits wiedergegebenen Versuche von Barcroft und dürfte, da menschliche Erythrocyten den gleichen Temperaturkoeffizienten zeigen, wie verdünnte Hb-Lösung [Hill und Wolvekamp (43)] grundsätzlich auch für Blut gelten. Im gleichen Bezugssystem sind als dünnere Linie die prozentualen Änderungen des O_2-Verbrauchs nach einigen unserer Tierversuche abgetragen.

Das Diagramm veranschaulicht also in allgemeingültiger Weise die für das Verständnis des Abkühlungsvorgangs unseres Erachtens grundlegende Tatsache, daß schon mit dem Beginn der Auskühlung (Stadium der beginnenden Dekompensation der Wärmeregulation) p_{O_2} sehr rasch sinkt, während gleichzeitig der Stoffwechsel nicht nur nicht sinkt, sondern sehr stark ansteigt. Es kommt also zu einer verhängnisvoll gegenläufigen Entwicklung von Bedarf und Angebot, d. h. zu einer typischen „Schere". Da es bei dieser Betrachtungsweise lediglich auf die den Vorgängen innewohnende Tendenz ankommt, muß sie grundsätzlich gültig sein, auch wenn der Grad der Temperaturabhängigkeit der O_2-Spannung in Wirklichkeit etwas geringer sein sollte, als hier angenommen ist.

Es steht also zweifelsfrei fest, daß es sogleich mit dem Versagen der Wärmeregulation bzw. mit dem Absinken der Körpertemperatur unter die Norm zu einer Qualitätsverschlechterung des Blutes kommt, gerade zu einer Zeit, wo an das vollwertige Funktionieren der O_2-Transportfunktion die höchsten Anforderungen gestellt werden. Andererseits ist es aber

ebenso sicher, daß diese Anforderungen trotzdem weitgehend erfüllt werden, wie der hohe O_2-Verbrauch dies beweist! Dieser Widerspruch ist aber nicht anders erklärbar als durch die Annahme, daß der Organismus die Scherensituation durch Einsatz von wirksamen Regulationsmaßnahmen erfolgreich abzuwehren vermag, so daß der dünne Faden, an welchem das Leben hängt, von der Schere doch nicht sogleich abgeschnitten wird!

Daß unter diesen Regulationsmaßnahmen der Kreislauf eine erste Rolle spielt, ist schon a priori zu erwarten und wirklich ist unsere Beobachtung, daß die O_2-Sättigung des Venenblutes schon im Beginn der Abkühlung anzusteigen pflegte, während gleichzeitig der O_2-Verbrauch gesteigert war, nicht anders zu deuten, als durch eine relative Zunahme des Stromvolumens noch über die Stoffwechselsteigerung hinaus. Dies gilt mindestens für das Jugularvenenblut und wäre als Kompensationsmaßnahme zur ausreichenden O_2-Versorgung der zentralen Funktionen aufzufassen.

Da wir nun einerseits wissen, daß manifester Sauerstoffmangel schlagartig tötet (34) (7), der Eintritt des Kältetodes aber andererseits an ein Temperatur-Zeit-Produkt geknüpft ist, so folgt, daß der durch die Schere heraufbeschworene O_2-Mangel anfänglich kein absoluter ist, sondern zunächst ein Zustand relativer, aber zunehmender O_2-Verarmung, wie er genau so beim Übergang zu großen Höhen besteht. Ebenso, wie wir dort von einer „Zeitreserve" sprechen (44) und damit meinen, daß die Zeitspanne bis zum Eintritt kritischen O_2-Mangels eine gesetzmäßige Funktion der Luftverdünnung ist, so dürfte auch das am Ausgang unserer Überlegungen stehende Zeitgesetz des Kältetodes auf gleichen Ursachen beruhen. Ebenso wie beim Höhentod wird also auch beim O_2-Mangeltod durch Kälte die Kompensierung des O_2-Mangels keine vollständige und dauernde sein können, da ja die Aufrechterhaltung der Kompensationsmaßnahmen energetisch betrachtet ihrerseits eine zusätzliche Belastung, d. h. ein Aufwand ist, der letzten Endes mit Sauerstoff bezahlt werden muß. Da aber das Zahlungsmittel Blut immer schlechter wird, d. h. seine Utilisierbarkeit sinkt, so muß es im Bereich der Schere früher oder später schließlich zu dem Moment kommen, wo die Ansprüche von Wärmestoffwechsel plus Regulation nicht mehr befriedigt werden können!

In dieser Lage ist es der einzig noch mögliche Ausweg, daß der Organismus den Heizungsstoffwechsel opfert, indem er zuerst diesem den Sauerstoff verweigert. Dadurch sinkt die Temperatur zwar noch schneller ab, aber die Sauerstoffspannung fällt jetzt nicht mehr so steil weiter, als daß nicht die Verminderung des O_2-Bedarfs, die durch Fortfall des Heizungsstoffwechsels eintritt, diesen Nachteil überwiegen könnte. Gibt also der Organismus das Bestreben der Wärmeregulation als nicht nur vergebliches,

sondern zuletzt ruinöses Unterfangen rechtzeitig auf, wie es allem Anschein nach der Winterschläfer von vornherein tut, so spart er damit Sauerstoff für den unentbehrlichen Mindestbetrieb und fristet so noch eine Weile das Leben. In dem Diagramm, das ja auch als Schema eines zeitproportionalen Abkühlungsvorgangs gelesen werden kann, kommt dieser Verlauf darin zum Ausdruck, daß sich die anfänglich gegenläufigen Linien von Stoffwechsel und p_{O_2} nicht mehr weiter voneinander entfernen und der O_2-Verbrauch jenseits des Indifferenzpunkts (der bei etwa 30—25° zu liegen pflegt) den Vorsprung von p_{O_2} langsam wieder „einholt". Man sieht also, daß paradoxerweise gerade in mittleren Temperaturbereichen O_2-Mangel am gefährlichsten droht.

Fällt etwa ein Schiffbrüchiger in Wasser von diesen Kältegraden, so wird eben seine Körpertemperatur nicht unter die des Mediums sinken und dementsprechend bleibt sein Stoffwechsel so lange hoch, bis das bestehende Mißverhältnis zwischen Verbrauch und Angebot zur Katastrophe führt. Sie ist bei solchen Wassertemperaturen dadurch bedingt, daß der Wärmestoffwechsel nicht zugunsten eines Minimalbetriebes geopfert werden kann und infolgedessen das Betriebsmaterial (O_2 plus Substrat) gleichzeitig für beide, in ihrer vitalen Bedeutung so ungleichen Bedarfsposten ausgeht: kann der Heizungsstoffwechsel nicht mehr betrieben werden, so ist in diesem Falle auch für den Posten „Regulationen gegen O_2-Mangel" und den Posten „Minimalbedarf" nichts mehr vorhanden, d. h. der bis dahin im wesentlichen kompensierte O_2-Mangel wird nun manifest. Es tritt nun der Tod unter dem Bild einer Atemlähmung in Erscheinung, die, wie jetzt ersichtlich wird, dem Mechanismus des Höhentodes (mit fehlender CO_2-Anhäufung) entspricht. Sowohl beim Höhen- wie beim Kältetod wird das Atemzentrum selbst ein Opfer des O_2-Mangels in dem Moment, wo die Kompensationen infolge O_2-Mangels zusammenbrechen.

Funktionieren sie gut, so tritt das Ereignis relativ spät ein: Das Atemzentrum stirbt als Vorletztes. Bringen es die Regulationsmaßnahmen aber ausnahmsweise nicht fertig, dem Primat der Zentren Rechnung zu tragen und die unwichtigeren O_2-Verbraucher zurückzustellen, so entwickelt sich die Atemlähmung bei noch relativ hohem Stoffwechselniveau, weshalb dann das Atemzentrum in einen circulus vitiosus hineingerät. Dieser kann durch künstliche Atmung noch vorübergehend durchbrochen werden, gerade weil sich in diesem Fall des Frühversagens noch ein gewisses Sättigungsdefizit zu entwickeln vermag. Hierbei nähert sich dann das Bild der banalen Form der Atemlähmung mit erhöhtem CO_2-Gehalt des Blutes.

Je länger die Regulationen aber den Eintritt des manifesten O_2-Mangels hinausschieben konnten, um so schlagartiger bricht dieser zuletzt doch herein. Für das Bild dieser Katastrophe ist es dann gleichgültig, an welcher Stelle das Abwehrsystem zuerst insuffizient geworden ist.

Unsere Darlegungen über die Sauerstoffschere sind abgeleitet aus Versuchen an narkotisierten Tieren. Da nun Narkose den O_2-Verbrauch stets mehr oder weniger stark herabsetzt (33), wird das aufgewiesene Mißverhältnis beim Nichtnarkotisierten zweifellos noch viel krasser sein und am größten dort, wo gleichzeitig noch Muskelarbeit geleistet werden muß, wie es beim Schiffbrüchigen stets der Fall ist. Die Zunahme des O_2-Verbrauchs wird in solchen Fällen die unserer Versuchstiere noch um ein Vielfaches übertreffen können; die Unsicherheiten, welche der Bestimmung des Temperaturkoeffizienten des Dissoziationsgleichgewichts anhaften mögen und zu etwas unterschiedlichen Angaben im Schrifttum Anlaß gegeben haben, erscheinen demgegenüber als völlig belanglos.

In einigen Fällen haben wir die Bestimmung des O_2-Verbrauchs ergänzt durch Bestimmungen der Reduktionszeit an der (nicht mitgekühlten) Zunge. Wie a. a. O. ausgeführt (29) (30), ist die Reduktionszeit von dem lokalen O_2-Vorrat einerseits und dem O_2-Verbrauch des Gewebes andererseits abhängig, also eine komplexe Größe. Die Wiedergabe eines solchen Versuchs zeigt Abb. 7.

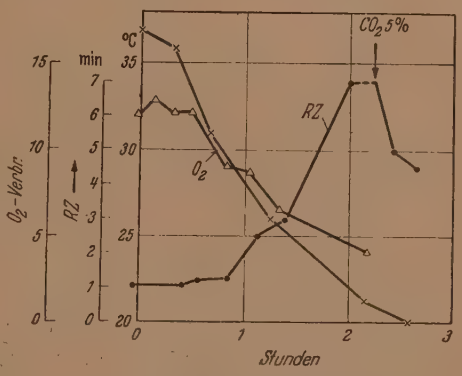


Abb. 7. Verlängerung der Reduktionszeit bei allgemeiner Auskühlung (●—●). Δ—Δ = O_2-Verbrauch, ×—× = Rectaltemperatur.

Hier kommt es bei Abkühlung zuerst zu einer geringen Verkürzung der Reduktionszeit, bei welcher vorwiegend die reflektorische Blutleere der Zunge, sowie die örtliche Zunahme des O_2-Verbrauchs zum Ausdruck kommt. Etwa gleichzeitig mit dem Sinken des O_2-Verbrauchs zwischen 33—30° beginnt die Reduktionszeit stark anzuwachsen, und zwar erreicht sie bei 22° C das Siebenfache des Ausgangswertes. Es kommt also auch im örtlichen Stoffwechsel die gewaltige Abnahme der Sauerstoffzehrung zum Ausdruck. Zuletzt wurde dem Atem-O_2 5% CO_2 zugesetzt; im Gegensatz zu dem Verhalten bei Normaltemperatur und in Übereinstimmung mit anders erzeugten Zuständen von O_2-Mangel (30) wirkt dieser Zusatz verkürzend auf die Reduktionszeit ein; in der Hauptsache vermutlich wegen der Öffnung von Kapillaren und der dadurch bedingten Steigerung des O_2-Druckgefälles zwischen Blut und Gewebe. Der Bohreffekt scheint an dieser Wirkung nicht beteiligt zu sein, wie aus Versuchen hervorging, bei denen die Bedrohlichkeit des Abkühlungszustandes durch CO_2-Zusatz dieser Konzentration nicht vermindert und die Überlebenszeit nicht verlängert werden konnte.

III. Die Sauerstoffmangel-Phänomene im Rahmen des Gesamtgeschehens.

Rückblickend auf unsere Ergebnisse und den historischen Gang der Forschung läßt sich nunmehr verstehen, warum der Mechanismus des Kältetodes dem Verständnis bisher so große Schwierigkeiten bereitet hat. Sie beruhten darauf, daß man es beim Abgekühlten wesentlich mit vier verschiedenen Arten von Vorgängen zu tun hat, die zum großen Teil gleichzeitig nebeneinander und miteinander ablaufen:

1. Regulationen gegen Wärmeverlust.
2. Unmittelbare Kältewirkungen.
3. Abwehrmaßnahmen gegen kältebedingten O_2-Mangel.
4. Störungen und Schädigungen infolge O_2-Mangels.

Es beruht auf diesem Ineinander verschiedenster Erscheinungen, daß jedes Zustandsbild gleichsam einen Schnitt durch alle vier „Schichten" und Funktionskreise darstellt. Erst nach Herstellung einer grundsätzlichen Ordnung kann nunmehr jede der bisher vorliegenden Einzelbeobachtungen einer dieser funktionellen Schichten zugeordnet und damit die einzelne Erscheinung wie auch das Gesamtgeschehen im Zusammenhang verstanden werden.

Die Regulationen im Dienste des Wärmehaushalts (Punkt 1) (1) waren praktisch alle bekannt, doch mußte der Versuch scheitern, ohne Punkt 3 auskommen zu wollen und die in ihrer Bedeutung noch nicht erkannten Erscheinungen unter 1. oder 2. einzuordnen. Besonders erschwerend hat der Umstand gewirkt, daß die zu 1. gehörigen Regulationsvorgänge ein sehr großes Gebiet von Umwelttemperaturen decken und sich bis weit in das Gebiet der faktischen Untertemperaturen hinein erstrecken, daß sie also auch noch im Spiele sind, wenn die Körpertemperatur bereits abgesunken ist, bzw. die Wärmeregulation schon insuffizient ist. Die Trennungslinie zwischen 1. und 3. zu ziehen, gelang andererseits auf Grund der heuristischen Annahme, daß man alle die Vorgänge, die erst unterhalb 37° auftreten, nicht mehr zu 1. rechnen darf. Sie waren dann nur noch auf die Laden 2, 3, 4 aufzuteilen, was gelang, sobald die nicht zu 2. oder 4. gehörigen Erscheinungen in Lade 3 hineinpaßten.

Insgesamt machen wir uns nun von den physiologischen Vorgängen bei zunehmendem Wärmeverlust folgendes Bild:

Ad 1. Sobald Kälte einwirkt, d. h. die Wärmebilanz negativ zu werden beginnt, setzen alle die zahlreichen Kompensationsmaßnahmen ein, die der Einschränkung der Wärmeabgabe und der Steigerung der Wärmeproduktion dienen, also Vorgänge reflektorischer Art, die zu einer Stoffwechselsteigerung mit allem hämodynamischen und hormonalen Drum und Dran führen. Innerhalb dieses Funktionskreises droht bei intakten Vollzugsorganen eine Gefahr höchstens durch Erschöpfung von Reserven (Glykogen, Cortin usw.) bei langdauernder schwerer Beanspruchung.

Ad 2. Zu diesem wohlcharakterisierten, ein autonomes Ganzes bildenden Komplex von Wärmeregulationen treten nun in dem Maße wie der Wärmeverlust überwiegt und zunächst die äußere Körperhülle abkühlt, jene beiden Reihen von Erscheinungen hinzu, die unmittelbar an die Temperaturerniedrigung (Punkt 2) (2) und den daran geknüpften Rückgang der Sauerstoffspannung gebunden sind.

Zu den schon bestehenden reflektorischen Veränderungen der Hautdurchblutung tritt also verstärkend die Kältekontraktion bzw. -lähmung der Hautgefäße. Gleichzeitig macht sich zuerst in der Peripherie die folgenschwere Wirkung der Blutabkühlung in Form charakteristischer Farbänderungen der Haut geltend: Die eintauchenden hellroten Partien gehen an der Trennungslinie meist mit scharfer Begrenzung in die cyanotisch Verfärbten über.

Bereits in diesem Stadium müssen wir also für die durchkälteten Gebiete mit Sauerstoffmangel rechnen, der durch die Neigung zu örtlicher Stase des Blutstroms sicherlich verstärkt werden kann. Für die Entstehung von örtlichen Kälteschäden mag er um so bedeutsamer sein, als um diese Zeit, wo das Körperinnere noch normal temperiert ist, Maßnahmen zur Abwehr des O_2-Mangels noch nicht oder nur mangelhaft eingesetzt sein dürften.

Ad 3. Erst mit der beginnenden Abkühlung auch des „Kernes" treten wir dann in eine neue Phase des Abwehrkampfes ein, gekennzeichnet durch das Hinzutreten der gegen O_2-Mangel gerichteten, zentral ausgelösten Regulationsvorgänge. Wie beim Übergang zu großen Höhen sehen wir als Reaktion von seiten der Atmung eine Zunahme des Atemvolumens, die auch hier über den Carotissinus zustande kommen dürfte und eine Sensibilisierung des Atemzentrums gegen den CO_2-Reiz darstellt. Im Gegensatz zur Höhensituation ist diese Reaktion der Atmung hier freilich zwecklos, da ja das Blut schon annähernd zu 100 % arterialisiert ist und eine Erhöhung des alveolaren p_{O_2} die Sättigung des Arterienblutes daher nicht mehr verbessern kann. Die Zunahme des Atemvolumens ist somit nur ein empfindlicher physiologischer Indikator für das tatsächliche Sinken der O_2-Spannung im Blute; sie ist also nicht lediglich, wie man bisher meinte, Ausdruck einer allgemeinen kältebedingten Zunahme der Reflexerregbarkeit (Zunahme der Summationsfähigkeit). Während also bei exogenem O_2-Mangel die Atmung eine Hauptrolle unter den Abwehrmaßnahmen spielt, muß ihre Aufgabe bei dem inneren O_2-Mangel, mit dem wir es hier zu tun haben, ausschließlich vom Kreislauf getragen werden. Er erfüllt sie mittels hämodynamischer wie hämatologischer Maßnahmen.

Die Reaktionen von seiten des Kreislaufs sind mangels eingehender Untersuchungen bei abgekühlten Tieren noch nicht zu übersehen und es bleibt abzuwarten, ob sich unsere Annahme einer anfänglichen Zunahme des Minutenvolumens als Erklärung der verminderten arteriovenösen Differenz im Stadium der Stoffwechselsteigerung weiterhin bestätigt. Hierzu wären vergleichende Untersuchungen von Kreislaufgröße und O_2-Ver-

brauch notwendig. Anzunehmen ist jedoch, daß der Körper auch bei Abkühlung den Versuch macht, die Verschlechterung der Sauerstoffspannung durch relative Vermehrung der Durchblutungsgröße zu kompensieren.

Gleichzeitig setzt der Körper noch viel energischer als bei Höhenkrankheit, Reserven der inneren Atmungsfläche ein, in denen es zu einer um so intensiveren Entspeicherung der Milz und anderer Organe (Haut) kommt, je stärker die Abkühlung ist und je länger sie andauert; auch die gelegentlich beschriebenen Reizungserscheinungen am Knochenmark, die bei akutem, exogenem O_2-Mangel fehlen, dürften den gleichen Sinn haben wie die Entleerung der übrigen Erythrocytenspeicher. Durch diese wird nämlich die „aktuelle" oder „physiologische" Sauerstoffkapazität des Blutes, wie wir diesen utilisablen Anteil im Gegensatz zur gesamten oder „potentiellen" O_2-Kapazität des Hämoglobins nennen können, vermehrt und damit die verminderte Entladungsfähigkeit der O_2-Transportvehikel durch eine Vermehrung ihrer Zahl ausgeglichen. Daß trotz gewaltiger Zunahme der Erythrocyten die Blutviskosität nur weniger ansteigt als selbst bei Kühlung des an Erythrocyten unvermehrten Blutes in vitro, dürfte einem besonderen Kompensationsvorgang zuzuschreiben sein. Schließlich werden wir damit rechnen dürfen, daß als dritte und vielleicht wichtigste Abwehrmaßnahme von seiten des peripheren Kreislaufs eine Öffnung zusätzlicher Kapillaren stattfindet (Krogh). Kann doch unmittelbar, wie das Schema der Abb. 8 andeutet, nur durch diesen Vorgang dem Sinken der Sauerstoffspannung entgegengewirkt werden.

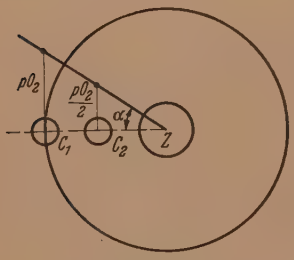


Abb. 8.
Sauerstoff-Druckgefälle und Kapillarisierung (schematisch).

Ist Z die Zelle mit dem gleich Null angenommenen Sauerstoffdruck und C_1 eine durchströmte Kapillare, in welcher der O_2-Druck von der Größe p_{O_2} herrsche, so ist das Druckgefälle durch den Winkel α gekennzeichnet. Wird nun die Anzahl der geöffneten Kapillaren auch nur verdoppelt (was z. B. im Muskel leicht möglich ist), so verkürzt sich die mittlere Entfernung zwischen Zellen und Kapillaren auf die Hälfte und es ist zur Aufrechterhaltung des gleichen Druckgefälles nur noch $p_{O_2}/2$ erforderlich.

Durch diese vermehrte Kapillarisierung würde also das maßgebende O_2-Druckgefälle entgegen der sinkenden Sauerstoffspannung des Blutes aufrechterhalten werden können. Voraussetzung ist ein genügend hoher Blutdruck, wie er bei der Abkühlung bis in späte Stadien hinein tatsächlich vorhanden ist. Dieser braucht also nicht als lediglich passive und gar (im Interesse der Herzarbeit) unerwünschte Folge der peripheren Kältekonstriktion angesehen zu werden. Eine sinnvollere Schonung des Kreislaufs hat vielmehr in diesem Stadium der Abkühlung schon „von selbst" eingesetzt durch die Verminderung des Stoffwechsels, wodurch die dem Kreislauf gestellten Aufgaben wesentlich reduziert werden (s. Abb. 6).

Ad 4. Zu dem beschriebenen Nebeneinander von Vorgängen der Wärmeregulation, von unmittelbaren Kältewirkungen und von Abwehrmaßnahmen gegen O_2-Mangel treten schließlich, ohne zeitlich fixierbare Grenze, schon relativ früh funktionelle Störungen des Gewebsstoffwechsels hinzu, die fließend zu bleibenden und histologisch nachweisbaren Schädigungen ihrer Organsubstrate führen dürften. Als solche Störungen, die wahrscheinlich auf örtlich schon früh beginnendem, nicht kompensiertem O_2-Mangel beruhen, haben wir die manchmal enorme Grade erreichende Abkühlungshyperglykämie und die Abkühlungslactacidämie zu betrachten. Die letztere wurde schon im alten Schrifttum richtig erkannt und auf das Zusammenwirken von schwerer Muskelarbeit und Asphyxie zurückgeführt (45), eine Deutung, die unter dem Eindruck verschiedener Tatsachen erst später wieder verlassen wurde (19). Diese Störungen nehmen in dem Maße zu, wie die Abwehrmaßnahmen gegen O_2-Mangel die Grenze ihrer Leistungsfähigkeit erreichen und in dem Maße, in dem immer weitere Organgebiete zugunsten des unumgänglichen Minimalbetriebes abgeschaltet werden müssen. Dabei ist es bezeichnend, daß wir pathol. anatomische Schäden gerade in jenen Organen bevorzugt auftreten sehen, die, wie insbesondere Nebenniere, Leber und Niere im Interesse des Ganzen bis zuletzt funktionieren müssen und dabei einen besonders hohen Sauerstoffbedarf zur Deckung ihrer energetischen Leistungen aufweisen. Auch die Feinstruktur dieser Schäden ist für ihre Entstehungsweise bezeichnend, insofern nach Büchner die vom Blutstrom zuerst umspülten Randpartien des Parenchyms, die noch einigen Sauerstoff bekommen können, nicht befallen sind, während die zentraler bzw. mehr stromabwärts liegenden Partien vakuolige Degeneration aufzuweisen pflegen.

Zusammenfassung.

Ausgehend von Beobachtungen, die eine einheitliche Ursache des Kältetodes wahrscheinlich machen, wird in der vorliegenden Arbeit eine Sauerstoffmangeltheorie der allgemeinen Abkühlung (Hypothermie) entwickelt. Als Vorbedingung hierfür wird das unübersichtliche Material von größtenteils noch zusammenhanglosen Einzelbefunden gesichtet und einem einheitlichen Deutungsversuch unterzogen. Durch schrittweise Ausscheidung des für den akuten Kältetod ätiologisch Unwesentlichen wird eine weitgehende Einengung der Fragestellung erzielt und dadurch deren experimentelle Beantwortung vorbereitet.

Als Angelpunkt des ganzen Kälteproblems erweist sich bei diesem Vorgehen die Frage, ob die mit der Abkühlung zunehmende O_2-Sättigung des Venenblutes nur die Folge oder aber die Ursache der gleichzeitigen starken Abnahme des O_2-Verbrauchs ist, d. h. ob die Abnahme des Stoffwechsels ihrerseits durch eine verminderte Utilisierbarkeit des Blutes bedingt ist. Als Ursache einer solchen kommt die starke Verlangsamung

der Dissoziation des Oxyhämoglobins durch Kälte, also die Hemmung der Reaktion $HbO_2 \rightarrow Hb + O_2$ in Frage.

Vergleicht man im Zustand starker Abkühlung die relative Abnahme der arteriellen O_2-Spannung mit derjenigen des O_2-Verbrauchs, so zeigt sich die erstere prozentual stärker erniedrigt, so daß an dem tatsächlichen Bestehen von Sauerstoffmangel nicht gezweifelt werden kann. Er beruht auf dem Mißverhältnis, das grundsätzlich durch rasches Absinken der O_2-Spannung bei gleichzeitig starkem Ansteigen des O_2-Verbrauchs zustande kommt, also auf einer gegenläufigen Entwicklung beider Vorgänge, durch welche der Körper unausweichlich in eine Schere zwischen O_2-Angebot und O_2-Nachfrage hineingerät.

Gegen den so entstehenden O_2-Mangel werden mit fortschreitender Abkühlung Abwehrmaßnahmen eingesetzt, die, aus der Höhenphysiologie wohlbekannt, eine Kompensation auch des kältebedingten Sauerstoffmangels für begrenzte Zeitdauer ermöglichen („Zeitreserve" in Abhängigkeit von der Temperatur). In dem Maße, wie diese Kompensationsmaßnahmen ihrerseits versagen bzw. unzureichend sind, kommt es zu hypoxischen Störungen des Stoffwechsels und ebensolchen Schädigungen der energetisch meistbelasteten Organe (Nebenniere, Niere, Leber und Herz), bis schließlich mit der endgültigen Dekompensation manifester O_2-Mangel hereinbricht und der Tod unter anoxischem Atemstillstand und sekundärem Kreislaufstillstand eintritt.

Die sämtlichen bekannten Erscheinungen des Abkühlungszustandes können auf Grund unserer Theorie zwanglos einem vierschichtigen System von Vorgängen zugeordnet werden, bestehend aus:

1. Regulationen gegen Wärmeverlust,
2. direkten Kältewirkungen (zufolge Versagens von 1.),
3. Regulationen gegen kältebedingten O_2-Mangel,
4. hypoxische Störungen und Schädigungen (zufolge Versagens von 3.).

Das gleichzeitige Nebeneinander dieser Vorgänge hat ihre funktionelle Trennung bisher erschwert und den Einblick in den wahren Mechanismus des Kältetodes lange verhindert.

Literatur.

1) Winternitz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **33**, 286 (1894). — 2) Schade: Handb. norm. u. path. Physiol. Bd. XVII, 424. — 3) Lucke: Handb. inn. Med. Bd. VI, 1941. — 4) Meidinger: Z. Biol. **100**, 361 (1940). — 5) Weltz, Wendt u. Ruppin: Münch. med. Wschr. 1942. — 6) Lutz, W.: Klin. Wschr. 1943 (im Druck). — 7) Lutz, W.: Luft.med. **7**, 84 (1942). — 8) Jarisch: Ref. anl. Tagung „Seenot-Winternot" d. San.-Insp. d. Lw. 1942. — 9) Gast: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **201**, 297, 1943. — 10) Claude Bernard: Leç. physiol. experimentale **1**, 182—184. — 11) Boehm u. Hoffmann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **8**, 375 (1878). — 12) Büchner: Klin. Wschr. 1943, S. 89. — 13) Staudinger: Zit. nach Büchner. — 14) Büchner: Luft.med. **6**, 281 (1942). — 15) Killian: Zbl. Chir. 1943, Nr. 2. — 16) Killian: Ebenda 1942, Nr. 45. — 17) Trendelenburg: „Die Hormone" I. Berlin 1929. — 18) Geiger: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **121**, 67

(1927). — 19) Geiger: Ebenda **170**, 296 (1933). — 20) Dill u. Forbes: Amer. J. Physiol. **132**, 685 (1941). — 21) Wendt, J.: Fschr. Röntgenstr. 1943 (im Druck). — 22) Staemmler: Krkh.forsch. **8**, 327 u. 427 (1930). — 23) v. Naegeli u. v. Scanzoni: Dtsch. Z. Chir. **228**, 397 (1930). — 24) Barbour u. Hamilton: Amer. J. Physiol. **73**, 315 (1925). — 25) Seelkopf: Zit. nach Wendt (21). — 26) König: Klin. Wschr. 1943, Nr. 3, S. 45. — 27) Van Slyke u. Sendroy: J. biol. Chem. (Am.) **79**, 781 (1928). — 28) Holló u. Weiss: Biochem. Z. **185**, 1927. — 29) v. Werz u. Reiter: Luftf.-med. **5**, 32 (1940). — 30) v. Werz u. Reiter: Ebenda **7**, 47 (1941). 31) Müller, E. A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 492 (1937). — 32) Velten: Pflügers Arch. **21**, 1880. — 33) Thauer: Ebenda **246**, 372 (1942). — 34) Henderson, Y.: Adventures in respiration. Baltimore 1938. — 35) Quinquaud: J. l anat. et physiol. **32** (1887). — 36) Barcroft: Atmungsfunktion des Blutes. II. Berlin 1929. — 37) Maçela u. Seliškar: J. Physiol. (Brit.) **60**, 428 (1925). — 38) Kempner: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **35**, 148 (1936). — 39) Verzár: J. Physiol. (Brit.) **45**. 39 (1912). — 40) Schneider: Luftf.med. **6**, 323 (1942). — 41) Grosse-Brockhoff: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **201**, 417, 443 (1943). — 42) Barcroft u. King: J. Physiol. (Brit.) **39**, 411 (1910). — 43) Hill, R., u. Wolvekamp: Proc. roy. Soc., Lond.-Ser. B: Biol. Sci. **120**, 484 (1936). — 44) Strughold: Luftf.med. **3**, 55 (1938). — 45) v. Fürth: Biochem. Z. **64**, 150 (1914). — 46) Araki: Z. physiol. Chem. **16**. 453 (1892). — 47) Glaessner: Wien. klin. Wschr. 1909, Nr. 26.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Notiz über Benzedrin und Pervitin.

Von

Wolfgang Heubner und **Margarete Stuhlmann.**

(Eingegangen am 9. August 1943.)

Für die Identifizierung des β-Phenylisopropylamins und seines N-Methylderivates kann unter Umständen der pharmakologische Versuch an Kleintieren in Betracht kommen. Aus diesem Grunde seien einige Daten niedergelegt, die bei der Applikation der Handelsprodukte Benzedrinsulfat und Pervitin (dem Chlorid der methylierten Base) erhalten wurden. Das Molekulargewicht beider Salze ist fast identisch, weil das Mehrgewicht des Sulfatäquivalents nahezu genau durch das Mindergewicht der CH_2-Gruppe ausgeglichen wird; man kann also gleiche Dosen auch als äquimolar ansehen.

Hauschild[1] gab für intraperitoneale Gaben an Ratten von Benzedrinbase 23 γ je g, von Pervitinbase 32 γ je g als tödlich an, was 31 und 40 γ je g der Salze entspricht.

Bei einer systematischen Untersuchung an Serien von Tieren mit geometrisch abgestuften Dosen nach Behrens und Kärber[2] zeigte sich eine ungewöhnlich große Streuung, so daß die Anwendung der Formel zur Berechnung der mittleren tödlichen Dosis als eine Willkür erschienen wäre, jedenfalls eine besondere Exaktheit der erhaltenen Zahlen nur vorgetäuscht hätte (vgl. Tabelle). Der Tod erfolgte bei den höchsten Dosen binnen einer halben Stunde, bei den geringeren wurde ein Tod im Laufe von 24 Stunden noch als Vergiftungsfolge gerechnet. Nicht völlig auszuschließen ist die Möglichkeit, daß einige der Tiere aus unbekannter Ursache gestorben sind, auch hatten wir gelegentlich den Verdacht, daß verendete und angenagte Ratten noch lebend von einem der erregten Käfigkameraden totgebissen worden waren; aber das Gesamtergebnis der starken Streuung kann dadurch nach unserer Meinung nicht erklärt werden. Im ganzen sprechen die Befunde dafür, daß Pervitin deutlich giftiger ist als Benzedrin: In den Mäuseversuchen äußerte sich dies durch die viel höhere Dosis Benzedrin, die für den maximalen Effekt gebraucht wurde, sowie durch die große Zahl von Tieren, die oberhalb der Dosis von 75 γ (bis 142 γ) je g am Leben blieben, nämlich 16 von 25, also 64 %, während von 10 Pervitintieren mit 71 und 75 γ keines überlebte und auch noch mit 40 – 53 γ nur

[1] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 647 (1940). — [2] Ebenda **177**, 379 (1935).

Tabelle. Ergebnisse von Serienvergiftungen mit Benzedrinsulfat und Pervitin.

θ = Überleben; + = tödlicher Verlauf.

I. Je 5 Ratten Pervitin intraperitoneal.

7	9,5	12,5	17	23	30	40	53	71	95	127 γ/g
θ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
θ	+	θ	θ	+	+	+	+	+	+	+
θ	+	θ	θ	θ	θ	θ	+	θ	+	+
θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	+	θ	+	+
θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	+	θ	θ	+

II. Je 5 Ratten Benzedrinsulfat intraperitoneal.

23	30	40	53	71	95	127 γ/g
θ	+	+	+	+	+	+
θ	θ	+	+	+	+	+
θ	θ	+	+	+	θ	+
θ	θ	θ	θ	+	θ	+
θ	θ	θ	θ	+	θ	+

III. Je 5 Mäusen Pervitin subcutan.

23	30	40	53	71	75 γ/g
θ	θ	+	+	+	+
θ	θ	+	+	+	+
θ	θ	+	+	+	+
θ	θ	θ	θ	+	+
θ	θ	θ	θ	+	+

IV. Je 5 Mäusen Benzedrinsulfat subcutan (und einige weitere Proben).

25	33	45	60	80	107	142	189	75	82	124 γ/g
θ	+	+	+	+	+	+	+	+	+	θ
θ	θ	+	θ	+	θ	θ	+	+		
θ	θ	+	θ	θ	θ	θ	+	+		
θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	+	+		
θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	+	θ		
								θ		
								θ		

40 %. Bei den Ratten war die maximale tödliche Dosis mit 127 γ je g intraperitoneal identisch, doch war hier die minimale tödliche Dosis für das Pervitin viel kleiner (oberhalb 7 γ statt oberhalb 23 γ bei Benzedrin).

Die von Hauschild angegebenen Dosen können nur als Zufallsbefunde betrachtet werden, und die daraus abgeleitete Folgerung, daß Pervitin weniger giftig sei als Benzedrin, ist irrig.

Über das Wirkungsbild der beiden Gifte ist der von Hauschild gegebenen Beschreibung noch nachzutragen, daß außer dem von ihm betonten Exophthalmus meist auch ein Sträuben der Haare und ein

zuweilen sehr starker Speichelfluß als Erscheinungen von Erregungen an vegetativ innervierten peripheren Organen zu beobachten sind. Der Speichelfluß äußert sich dadurch, daß die Tiere häufig ihre Schnauze mit den Pfoten putzen und daß sie längere Zeit ausgesprochen feucht ist, so daß die Tiere bei ihrem lebhaften Herumlaufen die Unterlage mit Flüssigkeit benetzen. Bei einigen Vergleichsversuchen mit Coffein konnte bei gleicher allgemeiner Unruhe ein solcher Speichelfluß nicht beobachtet werden.

Der Schmelzpunkt des Handelsproduktes „Pervitin" lag nach eigener Prüfung bei 171—172° (unkorr.), nachdem die Substanz bei 169° erweicht war. Woodruff, Lembooy und Burt[3] gaben — offenbar für das razemische Salz — den Schmelzpunkt 135—136° an. Benzedrinsulfat sintert ein wenig bei etwa 260°, schmilzt aber bis 280° nicht.

Den Temmler-Werken, Berlin-Johannistal, haben wir für die freundliche Überlassung von Präparaten zu danken.

[3] J. Amer. chem. Soc. **62**, 922 (1940); nach Chem. Centralbl. **1940**, II, 1280.

Aus dem Pharmakologischen Institut der kgl. ung. Péter Pázmány Universität Budapest.

Beiträge zur Rolle der Schilddrüse und des Nervensystems bei der chemischen Wärmeregulation.

Von

J. Gergely.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 13. Juli 1943.)

Der Klärung dieser viel umstrittenen Frage näher zu kommen, stellte unseren Ausgangspunkt jene, als allgemeines biologisches Prinzip zu betrachtende Tatsache dar, die darin besteht, daß diejenigen Anpassungsvorgänge des Organismus, die mit schnell zustande kommenden und kurze Zeit andauernden Funktionsveränderungen einhergehen, durch das Nervensystem organisiert werden. Dies kann durch zahlreiche Beispiele — von den einfachsten Reflexen an bis zu verwickelteren Vorgängen — erhärtet werden. Umgekehrt werden länger bestehende Tätigkeitsveränderungen vom Organismus grundsätzlich durch Inanspruchnahme der hormonalen Regulation gesichert. Demzufolge dürfen wir aus dem schnellen Abklingen einer durch einen entweder inneren oder äußeren Reiz hervorgerufenen Reaktion auf die nervöse Regulation des Vorganges, aus dem dauerhafteren Bestehen der veränderten Funktion dagegen auf eine hormonale Regulation schließen.

Es ist bekannt, daß eine Erniedrigung der Außentemperatur eine Steigerung des Stoffwechsels bewirkt. Wir wollten nun feststellen, wie lange es dauert, bis der Stoffwechsel eines vorher gekühlten Tieres bei indifferenter Temperatur auf seinen ursprünglichen Wert zurückkehrt, und auf diese Weise die Frage, ob die Kühlung die Stoffwechselsteigerung auf nervösem oder auf hormonalem Wege hervorrief, zu entscheiden.

Methodik. Unsere Versuche wurden mit dem v. Issekutzschen (1) Stoffwechselapparat durchgeführt, der ähnlich wie das Warburgsche Manometer arbeitet. Das Versuchstier kommt in den geschlossenen, mit einem Manometer verbundenen Behälter, die Kohlensäure der Atemluft wird durch Natronkalk gebunden, und aus der Druckverminderung kann der Sauerstoffverbrauch ermittelt werden. Für unsere Zwecke hat dieser Stoffwechselapparat den großen Vorteil, daß er die Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs in Perioden von 10 Minuten ermöglicht, ferner, daß man den gesamten Apparat bequem in ein kälteres oder wärmeres Wasserthermostat einsetzen kann.

Als Versuchstiere dienten weiße Ratten in einem Gewicht von 150—250 g. Die Untersuchung des Wärmeregulierungsvermögens benötigte längere, 4—5 Stunden dauernde Versuche, daher mußte dafür gesorgt werden, daß sich die Tiere im Laufe des Versuchs nicht willkürlich bewegten. Deshalb versuchten wir, die Ratten in ein enges, jede Bewegung verhinderndes Drahtnetz zu legen. Diese Methode

erwies sich jedoch als ungeeignet, da das Fell der Tiere vom Harn naß geworden war und ihr Sauerstoffverbrauch und ihre Körpertemperatur sich demzufolge ganz unregelmäßig verhielt. Zur Verhinderung der Unruhigkeit unserer Versuchstiere eignete sich am besten eine oberflächliche Urethannarkose, mit Dosen von 0,8 g/kg. Auf diese Weise lagen die Tiere ruhig im Apparat, und ihr Sauerstoffverbrauch erwies sich als sehr regelmäßig. Wenn wir nun unter solchen Umständen den Grundumsatz je eines Tieres bestimmten und das Wärmeregulierungsvermögen untersuchten, fanden wir, daß die Ergebnisse sämtlicher, am selben Tiere unter identischen Versuchsbedingungen durchgeführten Versuche gut übereinstimmten.

Die Untersuchung der chemischen Wärmeregulation verlief im einzelnen folgendermaßen. An 12 Stunden hungernden Ratten wurde zuerst der Grundumsatz durch sechs 10-Minutenperioden bei 29° — der indifferenten Temperatur — bestimmt. Dann kamen die Apparate in ein Wasserthermostat von 7—15°; nachdem 30 Minuten bis zum Temperaturausgleich gewartet wurde, haben wir den Sauerstoffverbrauch durch sechs 10-Minutenperioden bestimmt. Die Kühlperiode dauerte somit jedesmal 90 Minuten. Dann wurde die Temperatur der Tiere gemessen, wonach die Apparate wieder in das Wasserthermostat von 29° kamen. Nachdem wir von neuem 30 Minuten warteten, fingen wir mit der Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs an, die möglichst bis zur Rückkehr des Stoffwechsels auf den normalen Wert fortgesetzt wurde.

Die Körpertemperatur der Tiere wurde am Anfang des Versuchs, nach Beendigung der Kühlung und am Ende des Versuchs rectal gemessen. In einigen Fällen haben wir die Änderung der Körpertemperatur mit Hilfe eines in das Rectum gebrachten Thermoelements fortlaufend beobachtet.

Versuchsergebnisse.

1. Bezüglich des Verlaufs und der Zeitdauer der chemischen Wärmeregulation haben wir bei 19 normalen Ratten 37 Versuche, ferner bei 9 Thyreoidektomierten 16 Versuche durchgeführt. Die auf Grund der Bestimmungen konstruierten Kurven zeigen bezüglich der Dauer der durch die Kühlung bedingten Stoffwechselsteigerung grundsätzlich zwei Typen (Abb. 1).

Kurve 1 stellt einen Kühlversuch bei 14° dar, währenddessen der Sauerstoffverbrauch um 50 % steigt. Als jedoch der Apparat wieder ins Wasserbad von 29° kommt, ist der erste, nach 30 Minuten gemessene Wert wieder normal. Die Körpertemperatur des Tieres änderte sich im Laufe der Kühlung kaum. Dasselbe wird durch Kurve 2 veranschaulicht. In diesem Falle war die Temperatur des Kühlwasserbades 9°, und während sich der Stoffwechsel um etwa 100 % erhöhte, betrug die Verminderung der Körpertemperatur 1,8°. Eine halbe Stunde nach Aufhören der Kühlung war der Sauerstoffverbrauch bereits zum Normalen zurückgekehrt. Diese zwei Kurven stellen denjenigen Typus der Versuche dar, wofür es charakteristisch ist, daß der im Laufe der Kühlung gesteigerte Stoffwechsel, sobald sich das Tier wieder bei der indifferenten Temperatur befindet, rasch auf seinen ursprünglichen Wert zurückkehrt, und der Abfall der Körpertemperatur während der Kühlung gering ist.

Andere Verhältnisse werden durch die folgenden zwei Kurven veranschaulicht (Kurven 3 und 4). Es geht aus ihnen klar hervor, daß, falls

die Körpertemperatur des Tieres während der Kühlungsperiode stärker fällt, der Stoffwechsel auch nach Beendigung der Kühlung höhere Werte zeigt als dem Grundumsatz entspricht. In dem in Kurve 3 dargestellten Versuch steigt der Stoffwechsel während der Kühlung anfangs an, um dann einer Senkung Platz zu machen. Die Erklärung für diesen Abfall des Sauerstoffverbrauchs findet man darin, daß die Körpertemperatur einen Sturz auf 25° zeigte, und diese starke Abkühlung konnte durch die chemische Wärmeregulation nicht mehr völlig bewältigt werden. Aber eben dieser starken Abkühlung des Tieres zufolge tritt bei der indifferenten Temperatur wieder eine Kalorienproduktion ein, die höher ist, als es dem

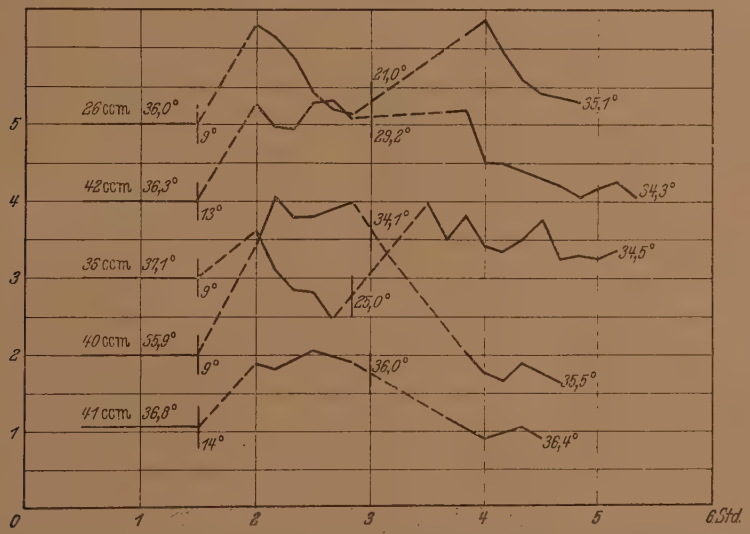


Abb. 1. Verhalten des Sauerstoffverbrauchs bei Kühlung. Abszisse: Zeit in Stunden. Ordinate: Sauerstoffverbrauch ccm O_2/10 Minuten. Teilung der Ordinate: 10 ccm. Die Ausgangswerte der einzelnen Versuche sind am Anfang einer jeden Kurve, zusammen mit der Körpertemperatur am Anfang des Versuchs eingetragen. Kurve 1—4: normale Tiere; Kurve 5: schilddrüsenloses Tier. Die Dauer der Kühlperiode wird durch die an jeder Kurve angebrachten zwei senkrechten Striche gekennzeichnet. Die beim ersten Strich stehende Zahl bedeutet die Temperatur des Wasserthermostaten, die beim zweiten stehende bedeutet die Körpertemperatur des Tieres am Ende der Kühlperiode. Die Körpertemperaturen am Ende des gesamten Versuchs befinden sich nach den Kurven.

Grundumsatz entspräche. Im anderen Falle (Kurve 4) blieb die durch Kühlung hervorgerufene Stoffwechselsteigerung im Laufe der ganzen Kühlungsperiode bestehen. Die auch bei diesem Versuch auffallend starke Abkühlung des Tieres — die Körpertemperatur fiel auf 29° herab — konnte zwar die gesteigerte Wärmeproduktion nicht beeinträchtigen, wirkte sich jedoch — ebenso wie im vorher beschriebenen Falle — dahin aus, daß der erhöhte Sauerstoffverbrauch auch nach Beendigung der Kühlung andauerte. Es ist hervorzuheben, daß in denjenigen Fällen, in welchen die durch die Kühlung bewirkte gesteigerte Kalorienproduktion sich auch bei indifferenter Temperatur fortsetzte, die Körpertemperatur des Tieres, die

während der Kühlungsperiode einen erheblichen Sturz erleidete, nicht einmal mehr als 2 Stunden nach Beendigung der Kühlung ihren ursprünglichen Wert wieder erreicht hat.

Auch aus dem bisher Gesagten ist es ersichtlich, daß die Zeitdauer des Bestehens der durch die Kühlung bedingten gesteigerten Wärmeproduktion davon abhängig ist, in welchem Maße die Körpertemperatur des Tieres im Laufe der Kühlungsperiode abfiel. Selbstverständlich ist jene Verminderung der Körpertemperatur, derzufolge der erhöhte Sauerstoffverbrauch auch bei indifferenter Temperatur noch bestehen bleibt, bei den einzelnen Tieren recht verschieden. Durch die statistische Analyse der Ergebnisse tritt jedoch diese Bedeutung des Körpertemperatursturzes während der Kühlung klar zutage (Tabelle 1). In jenen 21 Versuchen, in

Tabelle 1. Zusammenhang der Dauer der durch Kühlung verursachten Stoffwechselsteigerung und der Abnahme der Körpertemperatur.

	Der der Kühlung zufolge erhöhte Sauerstoffverbrauch kehrte bei der indifferenten Temperatur in		
	60 Min.	60 Min.	90 Min.
	zurück	nicht zurück	
Anzahl der Versuche	21	7 (2)	9 (2)
Mittelwert der Körpertemperatur am Ende der Kühlung, °C	34,0 ± 0,43	29,7 ± 0,84	
Signifikante Differenz	—	3,82	

Die eingeklammerten Zahlen geben die Anzahl derjenigen Versuche an, bei welchen der Stoffwechsel im letzten Abschnitt der Kühlungsperiode im Sinken begriffen war.

denen der Sauerstoffverbrauch der Ratten schon binnen 1 Stunde nach Beendigung der Kühlung auf den normalen Wert abfiel, betrug die Temperatur derselben am Ende der Kühlungsperiode im Durchschnitt 34,0°. Indessen verminderte sich die Körpertemperatur in den anderen 16 Versuchen, bei welchen die Tiere auch noch in der zweiten, auf die Kühlungsperiode folgenden Stunde einen gesteigerten Sauerstoffverbrauch bzw. Wärmeproduktion zeigten, im Durchschnitt auf 29,7°. Wenn man nun den Wert für die signifikante Differenz errechnet, beträgt er 3,82. Dies bedeutet also, daß der Zusammenhang zwischen der stärkeren Abkühlung und der längere Zeit dauernden Stoffwechselsteigerung zum Wesen der Erscheinung gehört; die Wahrscheinlichkeit, daß dieser Zusammenhang bloß zufällig sei, bleibt weit unter 1 %. Daß einem stärkeren Abfall der Körpertemperatur eine längere Zeit hindurch fortbestehende Stoffwechselsteigerung entspricht, geht auch aus dem Wert $-0{,}6094 \pm 0{,}0787$ des Korrelationskoeffizienten des Zusammenhanges der betreffenden Größen hervor. Der negative Korrelationskoeffizient ist weit größer als das Dreifache seines wahrscheinlichen Fehlers, muß daher als entscheidend betrachtet werden.

Unsere, das Verhältnis der Abnahme der Körpertemperatur und der gesteigerten Wärmeproduktion betreffende Auffassung kann auch durch jene Erfahrungen erhärtet werden, die wir an Hand von bei ein und demselben Tiere, aber bei verschiedenen Kühlungstemperaturen durchgeführten Versuchen gewonnen haben. Es kam nämlich vor, wie es auch aus Tabelle 2 hervorgeht, daß ein und dasselbe Tier, abhängig davon, bei welcher Temperatur der Kühlungsversuch vor sich ging bzw. in welchem Umfange seine Körpertemperatur abnahm, sowohl den einen als den anderen oben geschilderten Reaktionstyp zeigte. War die Abkühlung des Tieres stärker, so konnten wir nach der Beendigung der Kühlung längere Zeit hindurch eine Stoffwechselsteigerung feststellen, wurde dagegen die Kühlung bei einer etwas höheren Temperatur vorgenommen, so zeigte der Sauerstoffverbrauch, und damit die Kalorienproduktion, bereits bei der ersten, 30 Minuten nach der Kühlungsperiode erfolgenden Messung einen normalen Wert.

Tabelle 2. Einfluß verschiedener Kühlungstemperaturen bei ein und demselben Tier auf die Dauer der durch Kühlung verursachten Stoffwechselsteigerung.

Tier Nr.	Kühlungstemperatur °C	Sauerstoffverbrauch vor der Kühlung	Sauerstoffverbrauch 40 Minuten nach der Kühlung	Sauerstoffverbrauch 60 Minuten nach der Kühlung	Sauerstoffverbrauch 90 Minuten nach der Kühlung	Körpertemperatur vor der Kühlung	Körpertemperatur nach der Kühlung	Sauerstoffverbrauch 40 Minuten nach Ende der Kühlung	Sauerstoffverbrauch 60 Minuten nach Ende der Kühlung	Sauerstoffverbrauch 90 Minuten nach Ende der Kühlung	Körpertemperatur am Ende des Versuchs
5	9	36	48	34	26	37,1	25,0	55	52	46	34,5
5	13	34	61	69	64	36,0	33,5	33	38	36	36,1
10	9	42	64	54	37	36,0	28,6	57	47	43	36,0
10	13	44	68	78	78	37,3	35,0	47	42	40	37,1

Es kann daher behauptet werden, daß die Kühlung selbst keine nach dem Aufhören derselben längere Zeit bestehende Erhöhung der Wärmeproduktion hervorbringt, sondern ein solcher anhaltender gesteigertbleibender Stoffwechsel infolge der stärkeren Abnahme der Körpertemperatur des Tieres zustande kommt. Letzterenfalls bleibt nämlich der Sauerstoffverbrauch so lange erhöht, bis der durch die niedrige Bluttemperatur ausgeübte Reiz besteht, mit anderen Worten, so lange das Tier seine ursprüngliche Körpertemperatur nicht zurückgewonnen hat.

Dieser Vorgang ist nicht an die Tätigkeit der Schilddrüse gebunden, da auch bei schilddrüsenexstirpierten Ratten die Erscheinung zu beobachten ist, daß im Falle einer stärkeren Temperaturabnahme der Tiere nach Unterlassen der Kühlung der Sauerstoffverbrauch auch bei der indifferenten Temperatur nachträglich erhöht bleibt (Abb. 1, Kurve 5).

2. Des weiteren suchten wir darauf Antwort zu bekommen, wie das Wärmeregulationsvermögen gegen die Kälte durch das Fehlen der Schilddrüse beeinflußt wird. Als Maß der Wärmeregulationsfähigkeit haben wir

zwei Angaben betrachtet: die Zunahme des Sauerstoffverbrauchs während des zweiten und dritten Drittels (1 Stunde) der Kühlungsperiode, und die Abnahme der Körpertemperatur in der ganzen Zeitspanne derselben. Je größer ersterer und je kleiner letzterer Wert ist, um so besser ist das Wärmeregulationsvermögen zu beurteilen. Es schien richtiger, die Sauerstoffverbrauchssteigerung in absoluten Werten anzugeben, als sie in Prozenten auf den Grundumsatz zu beziehen, da beim gleichen Tiere Versuche sowohl vor, als nach Entfernung der Schilddrüse durchgeführt worden waren, und die durch eine Kühlung gleichen Umfanges bewirkte Kalorienmehrproduktion — die mit dem Sauerstoffverbrauch proportional geht — bei ein und demselben Tiere grundsätzlich vom Ruhestoffwechsel unabhängig sein muß.

Die Angaben der 3., 6. und 9. Säule von Tabelle 3 beziehen sich auf normale, die der 4., 7. und 10. auf thyreoidektomierte und endlich jene der

Tabelle 3. Einfluß von Schilddrüsenexstirpation und Thyroxinverabreichung auf das Wärmeregulierungsvermögen.

Tier	Temperatur des Kühlwasserbads	A. Erhöhung des Oxygenverbrauchs infolge der Kühlung ccm/Std.			B. Erniedrigung der Körpertemperatur infolge der Kühlung in °C			C. Oxygenverbrauch bei 29°C ccm/Std.		
Nr.	°C	bei normalen Ratten	nach Thyreoidektomie	nach Thyreoidektomie u. 3 · 0,3 mg Thyroxin pro kg	bei normalen Ratten	nach Thyreoidektomie	nach Thyreoidektomie u. 3 · 0,3 mg Thyroxin pro kg	bei normalen Ratten	nach Thyreoidektomie	nach Thyreoidektomie u. 3 · 0,3 mg Thyroxin pro kg
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	9	222	80	255	1,8	14.9	8,5	240	154	214
2	14	197	40		0,1	9,6		208	140	
3	9	143	76		3,1	6,0		236	85	
4	15	92	3	54	7,2	12,5	6,1	201	148	199
5	7	220	71	227	5,2	15,8	6,1	197	126	157
6	7	236	99	188	10,4	12,0	1,9	196	96	182
7	7	246	79		8,0	13,6		223	117	
8	7	259	0	47	7,2	14,4	13,2	211	85	197

5., 8. und 11. Spalte auf thyreoidektomierte und zusätzlich mit Thyroxin behandelte Tiere. Es geht daraus hervor, daß bei schilddrüsenlosen Tieren — deren Grundumsatz der 10. Säule zufolge vermindert ist — die durch die Kühlung bewirkte Sauerstoffverbrauchssteigerung wesentlich geringer, die Abkühlung der Tiere im Laufe der Kühlungsperiode dagegen größer ist als vor der Thyreoidektomie. Die Verschlechterung des Wärmeregulationsvermögens tritt im allgemeinen nicht auf der Stelle nach der Schilddrüsenexstirpation ein, sondern es benötigt in der Regel 2—3 Wochen, bis die Steigerung der Wärmeproduktion ausgesprochen kleiner wird. Diese Verhältnisse werden durch Abb. 2 veranschaulicht. Aus dieser Abbildung geht weiter hervor, daß der stärkere Abfall der Körpertemperatur bereits dann vorhanden ist, als die chemische Wärmeregulation — der der infolge der Kältewirkung eintretende Sauerstoffmehrverbrauch entspricht —

völlig normal ist. Daraus folgt also, daß infolge der Thyreoidektomie sowohl die physikalische, als die chemische Wärmeregulation beeinträchtigt ist. Die Verminderung letzterer kommt aber selbständig als direkte Folge der Schilddrüsenexstirpation zustande, stellt also nicht eine Konsequenz des stärkeren Temperaturabfalles dar, da das Versagen der zwei Arten der Wärmeregulation bei schilddrüsenlosen Tieren nicht im selben Zeitpunkt auftritt.

Zuletzt hatten wir noch die Frage zu entscheiden, ob die oben geschilderten, der Schilddrüsenexstirpation zufolge eintreffenden Erscheinungen durch Verabfolgung des Hormons der Schilddrüse, des Thyroxins, rückgängig zu machen sind. Nachdem die Verringerung der Wärmeregulationsfähigkeit klar zutage trat, verabreichten wir fünf schilddrüsenlosen Tieren 3 Tage hindurch 0,3 mg Thyroxin pro kg und Tag subcutan. Am vierten Tage haben wir wieder einen Kühlungsversuch durchgeführt, dessen Ergebnisse in die 5., 8. und 11. Säule unserer Tabelle 3 eingetragen wurden. Die Wirksamkeit der Thyroxinbehandlung ist dadurch erwiesen, daß damit der infolge der Thyreoidektomie stark gesunkene Grundumsatz in sämtlichen Fällen wieder auf normale Werte gebracht werden konnte. Es stellte sich weiter heraus, daß die Wärmeregulation der Tiere, denen Thyroxin verabfolgt wurde, eine wesentliche Verbesserung erfuhr. In drei Fällen von fünf erreichte der durch Kühlung hervorgerufene Sauerstoffmehrverbrauch praktisch wieder seinen höheren Wert, bei den anderen zwei Tieren, bei denen die chemische Wärmeregulation der Schilddrüsenexstirpation zufolge äußerst stark beeinträchtigt wurde, haben wir die durch Kälte bewirkte Erhöhung der Wärmeproduktion durch Thyroxinverabfolgung wenigstens zum Teil steigern können. Ähnlich verhielt sich der Abfall der Körpertemperatur, indem mit Ausnahme desjenigen Tieres, bei welchem auch die Wärmeproduktion schwer gelitten hatte, die schilddrüsenlosen Tiere nach Thyroxinbehandlung sich im Laufe der Kühlungsversuche gleichsam nur in demselben Umfange abkühlten wie im normalen Zustande.

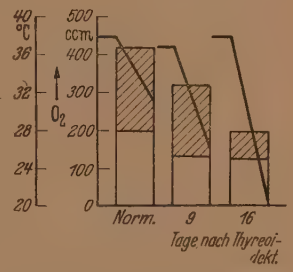


Abb. 2. Das zeitliche Verhalten der Wärmeregulation nach der Schilddrüsenexstirpation. Leere Säulen: Grundumsatz. Schraffierte Säulen: Sauerstoffmehrverbrauch infolge der Kühlung. Die ausgezogenen Linien zeigen den Verlauf der Körpertemperatur während der Kühlungsperiode.

Besprechung der Ergebnisse.

1. Aus unseren Versuchen geht zweifellos hervor, daß der Sauerstoffverbrauch von Ratten im Laufe von Kühlungsversuchen, die bei einer Temperatur von 7—15° C vorgenommen wurden, sehr bedeutend, manchmal mehr als um 100 % anstieg. Diese Stoffwechselsteigerung zeigte bei unseren Kühlungsversuchen eigentlich zwei Typen. In einem Teil der Fälle bestand der erhöhte Stoffwechsel während der ganzen Kühlungsperiode von 90 Mi-

nuten fort. Während dieser Versuche betrug der Abfall der Körpertemperatur im allgemeinen 0—5° C. In der anderen Gruppe der Versuche fingen die in je 10 Minuten bestimmten Sauerstoffverbrauchswerte nach einem anfänglichen Ansteigen wieder zu fallen an, jedoch so, daß sie in der Regel auch am Ende der Kühlungsperiode noch größer waren als diejenigen des Grundumsatzes. In diesen Fällen nahm die Körpertemperatur viel stärker ab als in der vorigen Gruppe, sie betrug nach Beendigung der Kühlung nunmehr 27—28° C. Es ist zu betonen, daß das chemische Wärmeregulationsvermögen so hochgradig ist, daß der tierische Organismus — unabhängig von der Van't Hoffschen Regel — trotz dem Abfall der Körpertemperatur imstande ist, die Wärmeproduktion zu steigern. Dies wird gut durch Abb. 3 gezeigt, in der wir die Änderung des Sauerstoffverbrauchs und die der auf thermoelektrischem Wege fortlaufend gemessenen Körpertemperatur dargestellt haben. Es ist ersichtlich, daß der Sauerstoffverbrauch noch dann im Wachsen begriffen ist, als die Körpertemperatur sich schon weit unter der Norm befindet. Die Kurven der Körpertemperatur und des Sauerstoffverbrauchs kreuzen einander. — Diese Ergebnisse stehen im vollen Einklang mit den Ausführungen von Giaja (2—4) und Thauer uud Wezler (5). Beiden Autoren zufolge fängt der Stoffwechsel unter der indifferenten Temperatur zu steigen an, währenddessen die Körpertemperatur anfangs unverändert bleibt. Wenn sich die Außentemperatur weiter vermindert, kommt es auch zu einem Sinken der Körpertemperatur, die Stoffwechselwerte streben dagegen einem Maximum zu. Endlich gibt es noch niedrigere Außentemperaturen, bei denen sowohl die Körpertemperatur, wie die Wärmeproduktion im Sinken begriffen sind (Giaja). Diejenige Temperatur, unter welcher auch schon ein Abfall des Stoffwechsels stattfindet, ist bei den einzelnen Tierrassen und bei den Einzelindividuen derselben Rasse verschieden. Den Untersuchungen Giajas, wie im allgemeinen den älteren — an kleineren Tieren durchgeführten — Stoffwechselversuchen, haftet der Fehler an, daß die einzelnen Werte im Laufe zu langer Meßperioden bestimmt wurden. Diesen Fehler konnten wir mittels des v. Issekutzschen Stoffwechselapparates beseitigen, mit dessen Hilfe wir die Änderungen des Sauerstoffverbrauchs infolge der Kühlung genau zeitlich verfolgen konnten. — In der Regel erfolgte nach unseren Erfahrungen eine Abnahme des anfangs gesteigerten Stoffwechsels erst dann, wenn die Körpertemperatur der Ratten erst auf 27—28° abgesunken war. Dieser Umstand ist besonders darum hervorzuheben, weil eben unlängst Mansfeld (6) die durch v. Issekutz und Kövári (7) be-

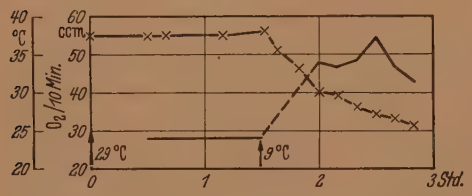


Abb. 3. Zusammenhang zwischen Stoffwechsel und Körpertemperatur. ——— Sauerstoffverbrauch/10 Minuten. ×——× Auf thermoelektrischem Wege gemessene Körpertemperatur.

wiesene zentrale stoffwechselvermindernde Wirkung des Novokains in Frage stellte, indem er behauptete, daß die stoffwechselsenkende Wirkung des Novokains dem durch dasselbe verursachten Temperatursturz zuzuschreiben sei. Daß dieser Standpunkt nicht zu Recht besteht, geht daraus hervor, daß die Körpertemperatur infolge der Novokainwirkung im Durchschnitt höchstens auf 34° C abfällt, sich also weit über der Temperaturzone befindet, unter welcher wir ein Sinken des Stoffwechsels beobachten konnten, und einem solchen Stoffwechselabfall ging immer eine Erhöhung desselben voraus, was bei den Novokainversuchen nie vorkam, zumal der novokainbedingten Stoffwechselsenkung eine Erhöhung nachfolgte. Diese Tatsachen zwingen auch uns neben einer direkten stoffwechselsenkenden Wirkung des Novokains Stellung zu nehmen.

2. Die Rolle der Schilddrüse bei der Wärmeregulation gegen die Kälte wurde bisher seitens mehrerer Verfasser experimentellen Prüfungen unterzogen, deren Ergebnisse jedoch einander ziemlich widersprechen. Hildebrandt (8) hat die Bedeutung der Schilddrüse bei der chemischen Wärmeregulation abgesprochen, ebenso wie Lee und Lee (9), die zu diesem Ergebnis auf Grund von an Gänsen durchgeführten neueren Versuchen gelangten. Im Gegensatz zu diesen Autoren beobachtete Schenk (10), sowie Pfeiffer (11) bei schilddrüsenlosen Tieren eine stärkere und länger andauernde Abkühlung infolge einer Kältewirkung. Alle diese Versuche haben den grundsätzlichen Fehler, daß die Untersucher entweder keine Stoffwechselbestimmungen durchgeführt haben, oder diese mit solchen Methoden vorgenommen wurden, die Einzelbestimmungen nur in längeren Zeitspannen ermöglichten. Ebenso müssen wir es als fehlerhaft betrachten, daß z. B. Hildebrandt sich damit begnügte, die Kühlungsversuche in einem Raum mit entsprechend niedriger Lufttemperatur durchzuführen. Die Art der Kühlung beeinflußt nämlich sehr bedeutend die Wirkung auf das Versuchstier. Dies können wir mit unserem folgenden Versuch veranschaulichen. Es wurde eine in einem Glasgefäß befindliche Ratte in den Eisschrank von 4—5° C gebracht. Ihre Körpertemperatur blieb während eines einstündigen Aufenthalts unverändert, die Temperatur einer Ratte dagegen, die im metallenen Stoffwechselbehälter in ein Wasserbad von 7° kam, fiel während derselben Zeit ausgesprochen ab. Danach konnten die negativen Ergebnisse der obigen Autoren offenbar auch so zustande kommen, daß die Abkühlung sehr geringfügig war und die Verteidigung dagegen tatsächlich nicht die Schilddrüse vermißte.

Wir sahen, daß nach unseren Untersuchungen die schilddrüsenberaubten Tiere infolge einer Kühlung ihren Stoffwechsel in weit geringerem Maße zu steigern befähigt waren und ihre Körpertemperatur sich stärker verminderte, als vor der Operation. Die Schilddrüse kann ihre Wirkung auf die Wärmeregulation — worüber wir uns durch unsere Versuche überzeugen konnten — eigentlich auf zwei Wegen ausüben. Entweder steigert das Thyroxin die Empfindlichkeit der Wärmezentren — wie es den Untersuchungen von v. Issekutz (12) und Mitarbeitern zufolge wahrscheinlich

ist, oder aber die Schilddrüse reagiert auf Kälteeinwirkung mit einer erhöhten Thyroxinproduktion und würde den Stoffwechsel auf diese Weise steigern [Mansfeld (13)]. Mansfeld und seine Mitarbeiter meinen nämlich, daß die Schilddrüse infolge einer Kältewirkung Thyroxin ins Blut abgäbe, und das Thyroxin sollte in der Hypophyse die Produktion einer chemischen Organisatorsubstanz in Gang setzen, deren Aufgabe darin besteht, den Schutz gegen Abkühlung mit einer sofort einsetzenden Stoffwechselsteigerung zu sichern.

In diesen Ergebnissen steckt jedoch ein gewisser innerer Widerspruch. Die Verfasser überzeugten sich nämlich vom Vorhandensein der, infolge der Thyroxinwirkung durch die Hypophyse sezernierten, eine angeblich sofortige Stoffwechselwirkung besitzenden Substanz, daß sie das Serum eines abgekühlten Tieres in ein anderes injizierten, und in letzterem beobachteten sie eine prompte Stoffwechselsteigerung. Dies traf auch dann ein, wenn das injizierte Serum aus einem Tier stammte, dem unmittelbar vorher i. v. Thyroxin verabfolgt wurde. Mansfeld und Mitarbeiter können jedoch darüber nicht Rechenschaft geben, warum, falls die infolge der Thyroxinwirkung in der Hypophyse entstandene Substanz tatsächlich eine prompte Stoffwechselwirkung besitzt — wenn es in ein anderes Tier injiziert wird —, diese prompte Wirkung nicht auch in dem thyroxinbehandelten Tier selbst zur Geltung kommt.

Wie dem auch sei, genügt nach unserer ersten Annahme das Vorhandensein des Thyroxins zur einwandfreien Betätigung der Wärmeregulation, während die zweite eine sich unmittelbar auf eine Kälteeinwirkung in Gang setzende gesteigerte Tätigkeit der Schilddrüse selbst verlangt. Wenn wir unsere Ergebnisse von diesem Gesichtspunkt aus analysieren, müssen wir auf Grund folgender zwei Umstände neben der ersten Annahme Stellung nehmen: 1. Die Wärmeregulation der schilddrüsenlosen Tiere verschlechtert sich nicht sofort nach der Entfernung der Thyroidea, sondern es bedarf in der Regel einer etwas längeren Zeit dazu. Daraus folgt, daß solange im Organismus eine genügende Menge von Thyroxin vorhanden ist — es ist ja bekannt, daß bei schilddrüsenlosen Tieren die Wirkung des Thyroxins erst allmählich abklingt [Mansfeld und Mészáros (14)] —, auch die chemische Wärmeregulation ausreichend ist, und ihre Verringerung läuft mit dem Aufhören der der Wirkung des im Organismus gebliebenen Thyroxins parallel. 2. Das Wärmeregulationsvermögen kann durch Thyroxineinspritzung wiederhergestellt werden — wie es im Laufe unserer Versuche festgestellt werden konnte —, man braucht also keine tätige Schilddrüse, die eben im Augenblick der Kälteeinwirkung mit einer gesteigerten Sekretion reagieren könnte.

Nach alledem müssen wir die Rolle der Schilddrüse bei der Thermoregulation gegen die Kälte darin erblicken, daß ihr Hormon, das Thyroxin, die Fähigkeit der nervösen wärmeregulatorischen Zentren, die Zellen zur gesteigerten Wärmeproduktion anzuregen, falls der Organismus von einem Kältereiz getroffen wird, fördert. Der Kältereiz kann zu den Zentren

entweder auf dem Wege der Nervenbahnen gelangen — wie z. B. im Falle der auf die Kühlung der Nase eintretenden Stoffwechselsteigerung [Rein (15), v. Issekutz jun. (16)] —, oder aber die Temperatur des durch die Zentren strömenden Blutes wird geringer, und dies setzt die Thermoregulation in Gang bzw. bewirkt ihre Aufrechterhaltung. Dieser letztere Fall besteht nach den Versuchen von v. Issekutz jun. (16) bei Rückenmarktieren, oder bei solchen Tieren, deren Rückenmark vom Lumbalabschnitt ab zerstört wurde. Bei diesen Tieren folgte nämlich auf die Kühlung einer hinteren Extremität eine Stoffwechselsteigerung der anderen nur, falls die Bluttemperatur erst abfiel. Es ist zu betonen, daß die nervösen Zentren auch im Mangel der Schilddrüse eine Wärmeregulationsfähigkeit gewissen Grades bewahren, daß Thyroxin sie bloß zu einer, größeren Umfangs befähigt. — Das Thyroxin kann die chemische Wärmeregulation auch dadurch erhöhen, daß es die peripheren Zellen selbst gegenüber der stoffwechselsteigernden Wirkung des Adrenalins sensibilisiert [v. Issekutz und v. Harangozó-Oroszy (17)].

3. Auf Grund des bisher Gesagten können wir schnell mit der Frage, welche Schlüsse man aus der Zeitdauer des Bestehens des bei der Kühlung auftretenden gesteigerten Stoffwechsels auf den Mechanismus der Wärmeregulation ziehen darf, fertig werden. Wir sahen, daß der gesteigerte Sauerstoffverbrauch der gekühlten Tiere, die wieder auf die indifferente Temperatur gebracht wurden, in 30—60 Minuten zur Norm zurückkehrte, vorausgesetzt, daß die Körpertemperatur im Laufe der Kühlung keinen größeren Abfall erfuhr. Die Stichhaltigkeit dieser Behauptung konnte auch durch die statistische Analyse gesichert werden. Falls also die Körpertemperatur des Tieres während des Kühlversuchs kaum oder überhaupt nicht niedriger wurde, so konnten wir kurze Zeit nach dem Aufhören des Kältereizes von neuem dem Grundumsatz entsprechende Werte messen. Daraus folgt auf Grund des in der Einleitung dargelegten Prinzips, da die Wärmeproduktionsreaktion des Organismus keine dauerhafte war, daß die unmittelbare Regulierung dieser Reaktion durch das Nervensystem, und nicht durch die innersekretorischen Drüsen — in erster Linie etwa die Thyreoidea — erfolgt. Diese Feststellung steht in Einklang mit unseren unter 2. gemachten Folgerungen, und verliert von ihrer Beweiskraft auch dadurch nichts, daß im Falle einer stärkeren Abkühlung der Tiere auch die gesteigerte Wärmeproduktion länger fortbestand. In diesem Falle bedeutete nämlich das Aufhören des äußeren Kältereizes nicht, daß nunmehr auch das Wärmezentrum von keinem Kältereiz getroffen wurde, denn eben infolge des größeren Temperaturabfalles der Tiere blieb auch das Nervensystem eine längere Zeit hindurch von kälterem Blut durchströmt. Solange diese Temperaturerniedrigung des Blutes vorhanden ist, wird auch die Wärmeproduktion größer sein. Davon also, daß unter Umständen die auf Kältewirkung eintretende Stoffwechselreaktion länger fortbesteht, muß man nicht zwangsläufig auf eine unmittelbare Wärmeregulationstätigkeit des endokrinen Systems bzw. besonders der Schild-

drüse schließen. Wie oben dargelegt, besteht ihre Rolle eher darin, daß sie durch das Thyroxin die Reaktionsbereitschaft der wärmeregulatorischen Zentren erhöht. Diese Auffassung wird auch durch die Tatsache erhärtet, daß auch die stärker abgekühlten schilddrüsenlosen Tiere eine langsamer abklingende Stoffwechselsteigerung zeigen.

Zusammenfassung.

1. Es wurde der v. Issekutzsche Stoffwechselapparat zur Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs von Ratten benutzt.

2. Kühlung bewirkte eine erhebliche Steigerung des Sauerstoffverbrauchs, die jedoch nach Beendigung der Kühlung bald auf die Norm zurückkehrte. Durch statistische Analyse konnten wir beweisen, daß in den Fällen, in welchen der gesteigerte Stoffwechsel eine längere Zeit hindurch bestehen blieb, die Ursache der stärkere Abfall der Körpertemperatur der Tiere war.

3. Das Wärmeregulationsvermögen schilddrüsenloser Tiere ist erheblich herabgesetzt. Dies kommt in der geringfügigeren kältebewirkten Stoffwechselsteigerung und im stärkeren Abfall der Körpertemperatur während der Kühlung zum Ausdruck.

4. Die Verschlechterung des Wärmeregulationsvermögens tritt nur in 2—3 Wochen nach der Schilddrüsenexstirpation deutlich auf.

5. Durch Thyroxinbehandlung konnte die Wärmeregulationsfähigkeit unserer schilddrüsenlosen Tiere völlig oder wenigstens zum Teil wiederhergestellt werden.

6. Auf Grund dieser Ergebnisse wird die Rolle der Schilddrüse und des Nervensystems bei der chemischen Wärmeregulation erörtert, und in der Richtung Stellung genommen, daß die Wärmeregulation unmittelbar Aufgabe des Nervensystems sei. Das Thyroxin fördert diese Fähigkeit, sowohl mittels seiner zentralen, wie peripheren Wirkung.

Literatur.

1) v. Issekutz u. v. Issekutz jun.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **199**, 306 (1942). — 2) Giaja: La Thermorégulation. Paris, Hermann, 1938. — 3) Giaja u. Gelineo: Arch. internat. Physiol. **32**, 237 (1930). — 4) Giaja u. Gelineo: Ann. Physiol. (Fr.) **7**, 152 (1931). — 5) Thauer u. Wezler: Z. exper. Med. **112**, 95 (1943). — 6) Mansfeld: Die Schilddrüse und ihre Hormone. Basel 1943. — 7) v. Issekutz u. Kövári: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **200**, 156 (1942). — 8) Hildebrandt: Ebenda **87**, 406 (1920). — 9) Lee u. Lee: Endocrinology (Am.) **21**, 790 (1937). — 10) Schenk: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **92**, 1 (1922). — 11) Pfeiffer: Ebenda **98**, 253 (1923). — 12) Siehe bei (7). — 13) Mansfeld: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **196**, 573, (1940). — 14) Mansfeld u. Mészáros: Ebenda **196**, 619 (1940). — 15) Rein u. Otto: Pflügers Arch. **243**, 303 (1941). — 16) v. Issekutz jun.: Erscheint zunächst in Pflügers Arch. — 17) v. Issekutz u. v. Harangozó-Oroszy: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **199**, 292 (1942).

Die Bleientgiftung.

Von

Prof. Dr. **Erich Hesse** und Dozent Dr. **Gertrud Meißner** (Breslau).

(Eingegangen am 24. August 1943.)

Zur Bleientgiftung hat man Jodkalium und Calciumverbindungen empfohlen, weil Jodide die Ausscheidung von Blei im Harn, Calciumsalze dagegen seine Deponierung fördern. Allein diese Mittel entziehen dem Kreislauf nur so geringe Metallmengen, daß sie — jedenfalls am Tier — nicht in der Lage sind, eine tödliche Bleiintoxikation zu verhüten (Hesse und Zeppmeisel[1]). Und am Menschen fehlt überhaupt der Nachweis, daß die genannten Antidota eine Verträglichkeit toxischer Bleimengen garantieren.

In letzter Zeit wurden Leberpräparate zur Behandlung der Bleianämie und Nikotinsäureamid zur Beseitigung der Bleihämatoporphyrinurie angegeben. Über die ersteren haben u. a. Hesse[2], Trizzino und Polese[3], Waniek[4] an Hand von Tierversuchen berichtet. Über das Nikotinsäureamid liegen am Menschen günstige Erfahrungen vor (Spies und Bean[5], Gross, Sasaki und Bean[6], Otto und Kuhlmann[7], Caccuri und Cesaro[8], Benko[9]). Nach Laves[10] sollen nikotinsäureamidhaltige Co-Dehydrasen (in Form des Präparates Glyconorm) gegen eine Bleitetraäthylvergiftung wirksam sein.

Als wir unsere früheren Erfahrungen über die bleientgiftende Eigenschaft des Leberpräparates Campolon (Hesse[2]) einer Nachprüfung unterzogen, zeigte sich, daß jetzt zur Verfügung stehende, antiperniciös wirkende Campolonchargen der Bleiintoxikation gegenüber versagten. Campolon weist also in bezug auf seinen Gehalt an Antibleifaktoren erhebliche Schwankungen auf. Wir haben daher erneut die Möglichkeiten einer Bleientgiftung an Tier und Mensch geprüft und die Wirkungsweise der gefundenen Gegenmittel aufzuklären versucht.

I.

Kaninchen erhielten fortlaufend[11] 0,25 g Bleiweiß/kg Anfangsgewicht in Gummilösung oral. In Übereinstimmung mit früheren Erfahrungen an 22 Kontrolltieren zeigten 17 neue Kontrollkaninchen eine durchschnittliche Lebensdauer von 13 Tagen (Tabelle 1). Ein einziges

[1] Klin. Wschr. **1937**, S. 1027. — [2] Ebenda **1940**, S. 104. — [3] Sperimentale **94**, 509 (1940). — [4] Arch. Gewerbepath. **11**, 58 (1941). — [5] J. clin. Invest. (Am.) **17**, 504 (1937). — [6] Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **38**, 189 (1938). — [7] Klin. Wschr. **1939**, S. 1081. — [8] Rass. Med. appl. Lav. industr. **13**, 317 (1942). — [9] Dtsch. med. Wschr. **1942**, S. 271. — [10] Ebenda **1939**, S. 1746. — [11] Pro Woche sechsmalige Zufuhr.

Tabelle 1. Bleientgiftungsversuche.
Pro die 0,25 g Bleiweiß/kg Anfangsgewicht oral, gleichzeitig wird das Gegenmittel gegeben (sechsmalige Zufuhr pro Woche).

Gegenbehandlung	Zahl der Kaninchen	Lebensdauer in Tagen	Durchschnittliche Lebensdauer der Serie in Tagen
Keine*	17	5, 5, 6, 6, 7, 9, 9, 9, 10, 11, 11, 12, 12, 16, 17, 28, 52	13
0,05 g 8-oxychinolin-5-sulfosaures Natrium (1,5%)/kg subcutan	17	4, 12, 13, 13, 15, 15, 17, 17, 17, 18, 19, 19, 19, 20, 23, 35, 39	19
0,3 g inosithexaphosphorsaures Natrium pro kg oral (Phytin-Natrium)	10	13, 19, 23, 27, 33, 33, 41, 43, 44, 92	37
0,03 g Nikotinsäureamid/kg i. v.	6	16, 17, 26, 26, 33, 52	28
4 ccm Glyconorm/kg i. v. (nikotinsäureamidhaltige Co-Dehydrasen)	6	10, 11, 13, 14, 15, 16	13
0,3 g inosithexaphosphorsaures Natrium pro kg oral und 0,05 g 8-oxychinolin-5-sulfosaures Natrium/kg subcutan	13	22, 28, 29, 32, 33** 38, 43, 43, 47, 49, 51, 70, 79	43
Dasselbe***	7	16, 23, 33, 33, 44, 54, 75	40
0,03 g Nikotinsäureamid/kg i. v. und 0,05 g 8-oxychinolin-5-sulfosaures Natrium/kg subcutan	6	9, 18, 26, 28, 32, 47	27

* 22 Kontrolltiere früherer Arbeiten lebten durchschnittlich 13 Tage. Die Lebensdauer der einzelnen schwankte zwischen 4 und 22 Tagen. — ** Die im Druck stärker hervorgehobenen Zahlen stammen von Kaninchen, bei denen die Dosis Phytin-Natrium 0,5/kg pro die betrug. — *** Gift und Gegenmittel wurden im Abstand von 8 Stunden gegeben.

Tier — von insgesamt 39 — blieb auffallend lange, nämlich 52 Tage, am Leben. Die übrigen starben zwischen dem 5. und 28. Tag. Diese Streuung verlangt größere Tierserien für die zuverlässige Beurteilung der Wirksamkeit eines Gegenmittels. 8-oxychinolin-5-sulfosaures Natrium verlängerte bei 17 Tieren die Lebensdauer im Durchschnitt um 50% [12]. Nikotinsäureamidhaltige Co-Dehydrasen (Glyconorm) waren unwirksam. Reines Nikotinsäureamid dagegen hielt 6 mit Bleiweiß gefütterte Kaninchen durchschnittlich 28 Tage am Leben [13]. Wesentlich stärker wirkt inosit-

[12] Frühere Versuche mit der Sulfosäure hatten eine Lebensverlängerung von 100% gegenüber den Kontrollen ergeben. — [13] Bei der tödlichen Bleitetraäthylvergiftung (0,1 ccm/kg subcutan pro die) sind 30 mg Nikotinsäureamid i. v. pro die ohne Wirkung. Durchschnittliche Lebensdauer von sechs behandelten Kaninchen 4 Tage gegenüber 5 Tagen von sechs Kontrolltieren.

hexaphosphorsaures Natrium[14] oral gegeben. Bei 10 Tieren wurde die letale Bleidosis im Durchschnitt auf fast das Dreifache der Kontrollen heraufgesetzt. Gibt man Bleikaninchen inosithexaphosphorsaures Natrium (per os) und 8-oxychinolin-5-sulfosaures Natrium (subcutan), so wird die Lebensdauer von 37 und 19 Tagen, die der einzelne Stoff garantiert, auf 43 erhöht, d. h. die Gegenwirkungen beider Substanzen addieren sich. Daß die Entgiftung innerhalb des Organismus abläuft und nicht etwa durch eine Resorptionshemmung im Magendarmkanal erklärt werden kann, beweisen Versuche, in denen Gift und Gegenmittel in einem zeitlichen Abstand von 8 Stunden verabreicht wurden. Die Lebensdauer von 7 derart behandelten Kaninchen betrug im Durchschnitt 40 Tage.

Um den Wirkungsmechanismus des inosithexaphosphorsauren und 8-oxychinolin-5-sulfosauren Natriums gegenüber der Bleiintoxikation zu klären, bestimmten wir den Bleigehalt in Radius-Ulna und Leber. Die Knochen wurden nach dem Tode der Tiere sorgfältig von Muskeln und Sehnen befreit, bei 100° getrocknet und in einer Mühle fein zermahlen. Die Leber unterwarfen wir, ohne sie vorher blutfrei zu machen, der gleichen Behandlung. In den Trockenpulvern wurde die Bleimenge nach dem titrimetrischen Dithizonverfahren (Reith und van Dijk[15]) ermittelt. Die Methode arbeitet nach unserer Erfahrung mit einer 95%igen Genauigkeit.

Bei 8 Kontrolltieren enthielt der Trockenrückstand von Radius-Ulna der rechten bzw. linken Seite 23,2 bzw. 25,7 mg% Pb, der der Leber 27,4 mg% Pb (Tabelle 2). Unter einer Behandlung mit 8-oxychinolin-5-sulfosaurem Natrium erhöht sich der prozentuale Metallgehalt der Knochen auf 50,4 bzw. 50,7 mg%. In der Leber blieb er unverändert. Die Bleimenge in Radius-Ulna (bezogen auf 1 kg Anfangsgewicht) stieg von dem Kontrollwert 0,23 mg bzw. 0,26 mg auf das Doppelte: 0,48 bzw. 0,47 mg. Da die mit der Sulfosäure behandelten Tiere im Durchschnitt nur 2 Tage länger gefüttert waren als die Kontrollen, ist eine Förderung der Bleispeicherung in den Knochen durch das 8-oxychinolin-5-sulfosaure Natrium als erwiesen anzusehen. — Wir zeigten früher, daß dieses Salz in vitro Bleiweiß löst und hatten es wegen dieser Eigenschaft als Entgiftungsmittel geprüft. Denn wir nahmen an, daß das Salz in vivo die Bleiausscheidung fördern würde. Das Gegenteil tritt jedoch ein. Im Bilanzversuch war eine vermehrte Metalleliminierung in Kot und Urin nicht nachweisbar, und die Knochenanalysen ergaben die erwähnte Förderung der Bleideponierung.

Anders ist der Entgiftungsmechanismus des inosithexaphosphorsauren Natriums[16]. Der Bleigehalt von Knochen und Leber wurde erheblich

[14] Der Ringzucker Inosit, den wir zum Vergleich prüften, war wirkungslos. Eine 25%ige Lösung von inosithexaphosphorsaurem Natrium ist seit Jahren unter dem Namen „Phytin liquidum" im Handel (Indikation: Roborans und Tonikum). — [15] Chem. Weekbl. **35**, 671 (1938). — [16] 1%ige wässerige Lösung von Phytin-Natrium löst Bleiweiß nur in Spuren.

Tabelle 2. Bleigehalt in Organen unbehandelter und mit Gegenmitteln behandelter Bleikaninchen.

Anfangsgewicht in kg	Lebensdauer in Tagen	Trockengewicht in g von			Pb-Gehalt berechnet auf Organtrockengewicht in mg% von		
		Radius-Ulna rechts	Radius-Ulna links	Leber	Radius-Ulna rechts	Radius-Ulna links	Leber
1. Bleikaninchen ohne Gegenbehandlung.							
2,04	5	1,86	2,05	21,2	19,0	26,2	26,5
1,60	6	1,47	1,41	16,6	15,1	19,4	20,0
2,12	7	2,67	2,56	20,5	41,9	42,0	32,0
2,40	9	2,36	2,35	15,2	33,0	34,0	20,8
2,42	9	2,53	2,46	23,5	22,4	17,5	23,0
1,63	9	1,64	1,59	19,0	20,0	30,5	30,4
1,82	17	1,49	1,52	10,3	7,5	12,9	28,6
1,68	52	1,42	1,37	7,3	26,9	23,0	38,2
Durchschnitt	14				23,2	25,7	27,4
Durchschnitt der Bleimengen in mg in Knochen und Leber bezogen auf 1 kg Anfangsgewicht*					0,24 mg	0,26 mg	2,27 mg
2. Mit 8-oxychinolin-5-sulfosaurem Natrium behandelte Bleikaninchen.							
1,55	13	1,66	1,75	9,0	42,0	45,6	24,9
1,75	12	1,78	1,71	12,5	60,9	60,9	33,3
2,95	17	2,60	2,25	22,8	48,2	45,6	24,3
2,65	23	2,25	2,15	12,0	50,3	50,8	39,2
Durchschnitt	16				50,4	50,7	30,4
Durchschnitt der Bleimengen in mg in Knochen und Leber bezogen auf 1 kg Anfangsgewicht*					0,48 mg	0,47 mg	1,87 mg
3. Mit inosithexaphosphorsaurem Natrium behandelte Bleikaninchen.							
1,30	19	1,52	1,52	9,1	24,6	24,6	6,3
2,45	23	2,48	2,51	11,1	28,1	28,1	21,6
1,85	33	1,71	1,66	7,7	49,5	47,3	13,2
1,85	41	1,77	1,71	7,6	38,5	38,5	9,9
2,30	43	2,34	2,12	12,2	21,6	20,6	13,5
Durchschnitt	32				32,5	31,8	12,9
Durchschnitt der Bleimengen in Knochen und Leber bezogen auf 1 kg Anfangsgewicht* ...					0,32 mg	0,34 mg	0,62 mg
4. Mit inosithexaphosphorsaurem Natrium und 8-oxychinolin-5-sulfosaurem Natrium behandelte Bleikaninchen.							
1,55	22	1,57	1,53	9,7	11,4	14,7	16,5
2,70	38	2,58	2,55	17,8	57,0	50,7	22,5
1,95	43	1,97	1,96	12,6	45,0	49,7	24,6
1,90	47	1,86	1,77	8,3	55,5	61,3	12,0
2,15	70	1,82	1,93	14,1	74,9	53,3	4,0
Durchschnitt	44				48,8	45,9	15,9
Durchschnitt der Bleimengen in mg in Knochen und Leber, bezogen auf 1 kg Anfangsgewicht*					0,46 mg	0,37 mg	0,95 mg

* Da die verfütterten Bleidosen während des ganzen Versuchs auf 1 kg Anfangsgewicht berechnet sind, ist die Pb-Gewichtsmenge der Organe ebenfalls auf 1 kg Anfangsgewicht bezogen worden.

vermindert. Bei einer mehr als doppelt so langen Fütterungszeit waren in Radius-Ulna und Leber insgesamt 1,22 mg Pb (bezogen auf 1 kg Anfangsgewicht) nachzuweisen, während bei den Kontrolltieren 2,77 mg Pb gefunden wurde. Die niedrigen prozentualen Pb-Mengen im Trockenrückstand der Leber fallen besonders auf. Wir müssen daher annehmen, daß unter dem Einfluß des inosithexaphosphorsauren Natriums Blei in vermehrter Menge aus dem Körper ausgeschieden wird. Eine Resorptionshemmung im Magendarmkanal kommt, wie oben nachgewiesen, nicht in Frage.

Bei der Kombination von Sulfosäure mit Phytin zeigt sich in den Bleibeständen der Leber deutlich die bleiausscheidende Wirkung des Phytins. Am höheren prozentualen Metallgehalt der Knochen scheint die Deponierungsfähigkeit der Oxychinolinsulfosäure zum Ausdruck zu kommen.

II.

Wir erwähnten, daß Leberpräparate in Kombination mit Oxychinolinsulfosäure keineswegs regelmäßig Blei zu entgiften in der Lage sind. Im Gegensatz zu früheren Erfahrungen versagten jetzt verwendete Campolonchargen (Tabelle 3). Da auch Hepartrat bzw. Heprakton B ohne Wirkung waren, während Hepaventrat H, welches einen Zusatz von Glucose- und

Tabelle 3. Bleientgiftungsversuche.
6 malige Zufuhr pro Woche von 0,25 g Bleiweiß/kg oral pro dosi. Gleichzeitig wird das Gegenmittel gegeben.

Gegenbehandlung	Zahl der Kaninchen	Lebensdauer in Tagen	Durchschnittliche Lebensdauer der Serie in Tagen
1—2 ccm Campolon/kg subcutan und 0,05 g 8-oxychinolin-5-sulfosaures Natrium (1,5%)/kg subcutan	14	6, 9, 12, 13, 13, 14, 14, 14, 15, 16, 18, 19, 19, 30	15
1—3 ccm Hepaventrat H*/kg oral und 8-oxychinolin-5-sulfosaures Natrium (1,5%)/kg subcutan	20	7, 9, 9, 9, 10, 15, 17, 18, 19, 29, 29, 31, 34, 35, 36, 41, 42, 44, 53, 54	27
Sulfosalicylsäurefällung des Aceton-Leberextraktes in Menge entsprechend 40 g Frischleber/kg oral	4	18, 19, 20, 24	20
Dasselbe und 0,3 g inosithexaphosphorsaures Natrium/kg oral und 0,05 g 8-oxychinolin-5-sulfosaures Natrium (1,5%)/kg subcutan	4	30, 34, 46, 110**	55

* Hepaventrat H enthält neben dem antiperniciösen Wirkprinzip einen Zusatz von Glucose- und Fructosephosphat. — ** Das 110 Tage lebende Tier wurde in gutem Zustand entblutet, da der Versuch abgebrochen wurde.

Fructosephosphat enthält, im Verein mit der Sulfosäure die Lebensdauer um 100% verlängerte, war zu vermuten, daß in den geprüften Leberfertigextrakten wechselnde Mengen von Antibleifaktoren vorhanden und diese nicht identisch mit bereits bekannten Leberprinzipien sind. Wir prüften weitgehend gereinigten Antiperniciosawirkstoff von Tschesche[17] (30 mg/kg subcutan), von dem eine einmalige Gabe von 40 mg den Blutstatus eines perniciosakranken Menschen für die Dauer von 4 Wochen normalisiert, ferner l-Tyrosin (0,2 g/kg oral), Lactoflavin (1,5 mg pro kg subcutan), Vitamin B_6 (30 mg/kg subcutan), Vitamin K (5 mg/kg subcutan), Panthotensäure (40 mg/kg subcutan) und p-Aminobenzoesäure (50 mg/kg oral) teils allein, teils in verschiedenen Kombinationen miteinander. Nennenswerte Wirkungen wurden nicht festgestellt.

Da aber an der Existenz von Antibleifaktoren in der Leber nicht gezweifelt werden konnte, haben wir selbst versucht, wirksame Leberkonzentrate zu gewinnen. Man erhält durch Extraktion von frischem Leberbrei mit so viel Aceton, daß die Acetonkonzentration 75% beträgt (Schütteln im Mischzylinder 8 Stunden lang), Abnutschen der flüssigen Anteile und Fällung mit Sulfosalicylsäure einen Niederschlag, der abzentrifugiert wird. Gibt man Bleikaninchen die Fällung oral in Mengen, die 40 g Frischleber pro kg entsprechen, so wird die Lebensdauer um 50% verlängert. Die Wirkweise des Konzentrates beruht auf Steigerung der Metallspeicherung in den Knochen, wie die Bleianalysen von Radius-Ulna

Tabelle 4. Bleigehalt in Organen mit Gegenmitteln behandelter Bleikaninchen.

Anfangsgewicht in kg	Lebensdauer in Tagen	Trockengewicht in g von			Pb-Gehalt berechnet auf Organtrockengewicht in mg% von		
		Radius-Ulna rechts	Radius-Ulna links	Leber	Radius-Ulna rechts	Radius-Ulna links	Leber
1. Mit der Sulfosalicylsäurefällung des Aceton-Leberextraktes behandelte Pb-Kaninchen.							
1,90	18	1,67	1,66	8,4	46,2	52,3	25,2
1,75	19	1,77	1,76	6,2	51,8	44,1	25,2
1,75	20	1,65	1,65	9,5	44,4	44,4	28,2
1,20	24	1,20	1,12	8,2	58,4	55,5	15,6
Durchschnitt 20					50,2	49,1	23,6
Durchschnitt der Bleimengen in mg in Knochen und Leber, bezogen auf 1 kg Anfangsgewicht					0,50 mg	0,48 mg	1,15 mg
2. Mit der Sulfosalicylsäurefällung des Aceton-Leberextraktes, inosithexaphosphorsaurem Natrium und 8-oxychinolin-5-sulfosaurem Natrium behandelte Pb-Kaninchen.							
1,80	34	1,61	1,66	5,7	43,1	29,4	5,7
2,00	45	1,83	1,97	9,3	41,7	42,5	12,3
1,65	30	1,43	1,46	6,3	71,1	71,1	25,5
2,10	110	1,71	1,74	11,2	56,1	60,2	56,1
Durchschnitt 55					53,0	50,8	24,9
Durchschnitt der Bleimengen in mg in Knochen und Leber, bezogen auf 1 kg Anfangsgewicht					0,46 mg	0,45 mg	1,18 mg

[17] Angew. Chem. 51, 349 (1938); Naturw. 1939, S. 176.

und Leber beweisen (Tabelle 4). Sie gleicht also derjenigen, welche das 8-oxychinolin-5-sulfosaure Natrium besitzt. Danach liegt die Vermutung nahe, daß die Bleiverteilung im Organismus, die ja durch die Metalldeponierung in den Knochen charakterisiert ist, durch einen in der Leber befindlichen, körpereigenen Wirkstoff reguliert wird. Weitere Reinigungsversuche des Konzentrates sind im Gange.

Kombiniert man den Leberextrakt mit Phytin und der Sulfosäure, so bleiben die Tiere viermal so lange am Leben wie die Kontrollen. Die Bleibestimmungen zeigten, trotz der langen Lebensdauer, niedrige Metallmengen in der Leber und Deponierung des Metalls in den Knochen. Wir dürfen den ersten Effekt dem Phytin, den zweiten dem Leberkörper und dem oxychinolinsulfosauren Natrium zuschreiben.

III.

Unsere Erfahrungen über die Entgiftungsmöglichkeit von Bleicarbonat am Menschen wurden im Rahmen einer Überprüfung der Wirkung größerer Bleimengen auf maligne Tumoren gesammelt. Sie sollten nicht nur beweisen, daß die Kaninchenversuche auf den menschlichen Organismus übertragbar sind, sondern auch die Grundlagen für eine prophylaktische Behandlung Bleigefährdeter in metallurgischen Betrieben abgeben. Zwar sind die Angaben von Bell[18] über eine günstige Beeinflussung Krebskranker durch Blei nicht bestätigt worden, aber die Aussicht, große Metallmengen ohne Schädigungen zuführen zu können, ließ einen erneuten therapeutischen Versuch als berechtigt erscheinen.

Das inoperable, vielfach Metastasen aufweisende Krankengut umfaßte 40 Carcinomfälle (Larynx, Tonsillen, Zunge, Oberkiefer, Halsdrüsen, Oesophagus, Magen, Gallenblase, Rectum und Mamma) und 2 Sarkomfälle (Oberschenkel, Mamma). Wir gaben täglich 10—30 mg Bleicarbonat, als Gegenmittel 2—3 Eßlöffel Hepaventrat neben zweimal 0,25 g 8-oxychinolin-5-sulfosaures Natrium oral. Gelegentliches Zurückgehen der Primärtumoren führte nur zu vorübergehender Besserung. Das Endergebnis war in allen Fällen, wenn auch manchmal erst nach 1—2 Jahren, ein negatives. Durch eine Kombination der Bleitherapie mit Röntgentiefenbestrahlungen wird der Enderfolg nicht besser. Von maximalen Pb-Dosierungen, die ohne Schaden vertragen wurden, seien folgende angeführt:

1,4—1,5 g	Bleicarbonat	innerhalb	5—6	Wochen	(6 Fälle) oral.
2,57 g	„	„	10	„	(1 Fall) „
3,05 g	„	„	24	„	(1 „) „
3,3 g	„	„	16	„	(1 „) „
3,8 g	„	„	14	„	(1 „) „

[18] Literatur siehe Flury, Blei. Handb. exper. Pharmak., 3. Bd., 3. Teil, 1934; dort auch Angaben über toxische und tödliche Bleidosen beim Menschen: 5—10 mg Pb täglich per os; 0,2—0,3 mg Pb/kg täglich mehrere Wochen lang; 1 mg Pb täglich mehrere Monate lang u. a.

Der Versuch, das Hepaventrat durch Campoloninjektionen zu ersetzen, mißlang. Auftretende Koliken, Abnahme der Erythrocyten und des Hämoglobins zwangen meist schon nach 2—3 Wochen zum Abbruch der Behandlung. Diese Erfahrung deckt sich mit den beschriebenen Tierversuchen.

Die von Bell behauptete Bleispeicherung in den Primärtumoren und Metastasen haben wir nachgeprüft. In 2 Fällen konnten erhebliche Metallmengen nachgewiesen werden, in einem dritten Fall wurde die Deponierung vermißt (Tabelle 5).

Tabelle 5. Bleigehalt in Organen krebskranker Menschen, die nach einer Behandlung mit 2—3 g Bleicarbonat oral nebst den Gegenmitteln Hepaventrat und 8-oxychinolin-5-sulfosaures Natrium an den Folgen des Carcinoms oder intercurrent gestorben waren.

Diagnose	Organ	Pb-Gehalt in Organtrockengewicht in mg%
Zungencarcinom	Primärtumor	18,5
	Leber mit Metastasen	28,0
	Leber ohne Metastasen	22,5
	Niere	28,0
	Epiphysenteil der Brustrippen	30,0
Oberkiefercarcinom	Lymphdrüsenmetastasen	37,3
	Leber	29,4
	Niere	12,0
Larynxcarcinom	Primärtumor	0
	Leber	23,0
	Niere	20,0

Wir haben schließlich am Menschen die Entgiftungsmöglichkeit von Bleicarbonat mit Phytin (3—4mal täglich 0,25 g oral) und 8-oxychinolin-5-sulfosaurem Natrium (zweimal täglich 0,25 g oral) überprüft. Nach den Tierversuchen mußten sich weit höhere Bleimengen als vorher mit den Gegenmitteln Hepaventrat und der Sulfosäure ohne Schädigungen geben lassen. Ein Fall mit einem Parotismischtumor (Carcinom) oberhalb des rechten Schlüsselbeins und einer mehr als faustgroßen Achseldrüsenmetastase erhielt zweimal in Abstand von 20 Tagen je 2 g Bleicarbonat innerhalb 3 Wochen (1,0 mg Pb/kg pro die). Primärtumor und Metastase waren ergebnislos bestrahlt worden. Sie bildeten sich unter Pb weitgehend zurück. Während der Bleibehandlung traten basophile Erythrocyten in pathologischer Zahl und Hämatoporphyrin im Harn nicht auf. Ein weiterer Fall (papilläres Cystadenolymphon) vertrug 2 g Bleicarbonat innerhalb 20 Tagen reaktionslos.

Aus alledem leiten wir die Berechtigung ab, Bleigefährdete in Betrieben prophylaktisch mit Phytin oder mit Phytin und 8-oxychinolin-5-sulfosaurem Natrium zu behandeln und schlagen folgende Dosierung für längere Zeit vor: 1—2mal pro die 0,25 g Phytin oral, eventuell zusätzlich pro die 0,25 g 8-oxychinolin-5-sulfosaures Natrium oral.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Reichsuniversität Graz.
(Vorstand: Professor Dr. W. Blume.)

Vergleichende Untersuchungen über den Resorptionsverlauf des Cibazols nach intramuskulärer und rectaler Applikation.

Von
Wilhelm Blume und **Walter Vogel.**

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. August 1943.)

Das Cibazol (Sulfanilamidothiazol) wird im allgemeinen peroral in Tablettenform oder intramuskulär als Natriumsalzlösung angewandt. In besonderen Fällen, in denen Cibazol peroral nicht vertragen wird, soll nach Frey [1] die Substanz in Suppositorienform, rectal appliziert, wirksam sein. Von Jentzen und Demole [2] werden die Cibazol-Suppositorien wegen schlechter Resorption abgelehnt, wohingegen die Resorption nach rectaler Verabreichung der Ampullenlösung gut sein soll. Vgl. auch Jentzer und Calame [3].

Diese Feststellungen stützen sich auf einfache Beobachtungen der therapeutischen Erfolge am Menschen bzw. auf einige Resorptionsversuche am Menschen. Entsprechende Tierversuche fehlen, ebenso ist unseres Wissens auch der Resorptionsverlauf des Cibazols nach intramuskulärer Applikation bisher nicht näher untersucht. Wir stellten uns daher die Aufgabe, an Kaninchen den Resorptionsverlauf des Cibazols nach intramuskulärer Injektion, nach rectalem Einlauf und nach Anwendung der Substanz in Zäpfchenform zu studieren, und zwar an Hand der in bestimmten Zeiträumen festzustellenden mit dem Harn ausgeschiedenen Cibazolmengen, wie der entsprechend ermittelten Cibazolkonzentrationen im Blute. Die Befunde waren zu vergleichen 1. untereinander, 2. mit früheren Versuchsergebnissen mit salicylsaurem Natrium, dessen Resorption und Ausscheidung in entsprechender Weise von Blume und Mitarbeitern [4–8] ermittelt worden war. So bestand die Aussicht, Einblick zu erhalten in die Besonderheiten der Cibazolresorption gegenüber der des salicylsauren Natriums und ferner für die Therapie festzustellen, unter welchen Be-

---

[1] Frey: Schweiz. med. Wschr. **71**, 523 (1941). — [2] Jentzer u. Demole: Schweiz. Praxis, Nr. 41, 1942. — [3] Jentzer u. Calame: Schweiz. med. Wschr. **73**, 601 (1943). — [4] Blume, W., u. P. Breunig: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **161**, 181 (1931). — [5] Blume, W., u. G. Buchholz: Ebenda **166**, 472 (1932). — [6] Blume, W., u. F. S. Nohara: Ebenda **173**, 413 (1933). — [7] Blume, W., u. F. W. Fischer: Ebenda **179**, 646 (1935). — [8] Blume, W., u. K. Plum: Ebenda **179**, 655 (1935).

dingungen bei rectaler Anwendung Cibazolkonzentrationen im Blute zu erhalten sind, wie sie sonst nur bei intramuskulärer Anwendung auftreten, und wie sich der Resorptionsverlauf bei rectaler Applikation überhaupt gestaltet.

Versuchsanordnung.

Als Versuchstiere dienten Kaninchen von durchschnittlich 3 kg Gewicht, die mit Rüben, Hafer und etwas Brot ernährt wurden. Die intramuskuläre Injektion des Cibazols erfolgte in die Muskulatur des Oberschenkels. Verwendet wurde das Natriumsalz, wie es in Form der Originalampullen als Cibazol der Ciba A.-G., Berlin-Wilmersdorf, in den Handel kommt*. Es wurden 0,2 bzw. 0,25 ccm des Ampulleninhalts mit Hilfe einer Tuberculinspritze intramuskulär injiziert, das sind 40—50 mg, entsprechend je nach dem Tiergewicht einer Dosis von 1 g für einen 70 kg schweren Menschen, wie sie in der Praxis Verwendung findet.

Rectal wurden ebenfalls 0,2—0,25 ccm des Ampulleninhalts, entsprechend 40—50 mg Cibazol, aber mit 8—10 ccm Ringerlösung verdünnt, verwendet. Die Injektion in das Rectum erfolgte mittels eines etwa 10 cm tief in das Rectum eingeführten Katheters mit einer 10 ccm Rekordspritze. Nach der Injektion wurde der Sphinkter mittels einer kleinen Klemme möglichst schonend abgeklemmt. Nach 2—3 Stunden schien die Flüssigkeit resorbiert zu sein, denn es erfolgte kein Rückfluß nach dieser Zeit. Trotz der hohen Alkaleszenz der Lösung, die einen p_H-Wert von rund 8 zeigte, waren Schleimhautschädigungen makroskopisch nicht festzustellen, wie wir uns in einem besonderen Versuch überzeugen konnten.

Zur Herstellung der Suppositorien wurden Cibazol in Substanz und Postonal** als Suppositorienmasse verwendet. Die später angegebenen Cibazoldosen wurden in den entsprechenden Postonalmengen bei 60° im Wasserbad oder durch vorsichtiges Erhitzen über der Flamme gelöst und in Suppositorienform gegossen. Die Suppositorien wogen 1,3 g und enthielten die angegebenen Cibazoldosen. Mikroskopisch konnten wir uns überzeugen, daß in der Masse Cibazol in Kristallform feststellbar war. Nach Einführung der Suppositorien in das Rectum wurde dieses wie oben abgeklemmt. Nach 3—4 Stunden, während welcher Zeit die Tiere auf dem Operationstisch blieben, erfolgte die Entfernung der Klemme.

Das Blut wurde in bestimmten, weiter unten genauer angegebenen Zeiträumen aus der Ohrvene entnommen und jede Cibazolbestimmung doppelt durchgeführt.

Die Cibazolmengen des Harns, der nach Maßgabe der Diurese, stündlich oder seltener, mit dem Katheter zu gewinnen war, wurden in jeder Harnportion während der ersten 12 Stunden nach der Applikation des Cibazols bestimmt. Anschließend wurden Tag- und Nachtharne gesondert gesammelt bzw. der Cibazolgehalt in dem in 24 Stunden erhaltenen Harn ermittelt.

Die Bestimmung des Cibazols im Harn und im Blute in reiner Form wie nach Verseifung des acetylierten Produktes erfolgte kolorimetrisch nach der Methode von Oesterheld[9]. Vgl. auch J. Druey und G. Oesterheld[10].

---

* Das Cibazol in Lösung in Ampullen, wie Cibazol in Substanz, ferner die später zu erwähnende Acetyl-H-Säure (1-Acetyl-amino-8-oxy-3,6-naphthalindisulfosäure) wurden uns von der Ciba A.-G., Berlin-Wilmersdorf, zur Verfügung gestellt, wofür an dieser Stelle bestens gedankt sei.

** Das Postonal stellte uns die Firma „Bayer", I. G. Farbenindustrie, zur Verfügung, wofür wir bestens danken.

[9] Oesterheld, G.: Schweiz. med. Wschr. **70**, 459 (1940). — [10] Druey, J., u. G. Oesterheld: Helvet. chim. Acta **25**, 753 (1942).

Für die Löslichkeit des Cibazols bzw. des Acetyl-Cibazols im ausgeschiedenen Harn bestanden nach Druey und Meier[11] in unseren Versuchen günstige Bedingungen, da der p_H-Wert des Harns meist etwa 8 betrug.

Die kolorimetrische Bestimmung des Cibazols in Form seines Azofarbstoffes erfolgte mit dem Photozellenkolorimeter nach Havemann[12]. Es wurden für die Konzentrationsbereiche 0—20 mg% im Blute und 0—0,5 g% im Harn Eichkurven ermittelt, die nach eingehender mehrfacher Prüfung sich als stets brauchbar erwiesen. Jede Messung wurde doppelt ausgeführt, und zwar ohne und mit einem unserem Farbstoff entsprechenden blaugrünen Filter.

Die Azofarbstoffe erreichen, wie wir feststellen konnten, erst durchschnittlich 15 Minuten nach vollendeter Diazotierung ihre volle Intensität und bleiben bis zu 12 Stunden brauchbar.

Es zeigte sich auch, daß nur frisch hergestellte 1%ige Acetyl-H-Säurelösung für die Kupplung mit den diazotierten Proben des Harns verwendbar ist. Bei der Anwendung von Acetyl-H-Säurelösungen, die 24 Stunden und älter sind, werden namentlich im Bereich von 0,05 g% Cibazol und darunter viel zu hohe Werte erhalten.

Für die Cibazolbestimmung im Blute haben sich bei der Anwendung frischer oder älterer Lösungen der Acetyl-H-Säure, die in diesem Falle nur 0,5% ist, keine Unterschiede ergeben, da im Blute im allgemeinen viel geringere Cibazolkonzentrationen auftreten als im Harn.

Die niedrigsten nachweisbaren Cibazolkonzentrationen im Blute liegen bei 0,1 mg%, im Harn bei 0,01 g%. Eine Begrenzung der Nachweisbarkeit bei hohen Konzentrationen besteht nicht, da diese durch Verdünnung dem Meßbereich der Eichkurve angepaßt werden können. Was die Genauigkeit der Cibazolbestimmung nach der Methode von Oesterheld betrifft, so wichen im Harn die gefundenen von den tatsächlichen Werten durchschnittlich um 2, im Blute um durchschnittlich 5% ab.

Versuche mit intramuskulärer Cibazolinjektion.

Es wurden zwei Versuche mit 13 mg und sieben Versuche mit 16 bis 20 mg Cibazol pro kg angestellt. In jedem Fall erfolgte die Cibazolinjektion intramuskulär in der beschriebenen Weise. Die Substanz war etwa 15 Minuten nach der Einspritzung im Harn nachzuweisen. Die größten Cibazolmengen wurden meist innerhalb der 1. und 2. Stunde nach der Applikation ausgeschieden, sie beliefen sich auf $^1/_5$—$^1/_4$ der ausgeschiedenen Gesamtmenge. Anschließend fiel die Ausscheidungskurve allmählich ab. Die Hälfte der ausgeschiedenen Gesamtmenge war nach 4—12 Stunden, zuweilen erst nach 24 Stunden sezerniert. Die Gesamtdauer der Ausscheidung betrug bei zwei Versuchen mit 13 mg/kg über 4 Tage, bei den sieben Versuchen mit 16—20 mg Cibazol/kg über 6—7 Tage. Die Ausscheidungsgröße, das ist die ausgeschiedene Gesamtmenge, belief sich auf durchschnittlich 75%. Die Ausscheidungsintensität = Ausscheidungsgröße : Ausscheidungszeit auf 0,32, d. h. durchschnittlich wurden pro Stunde 0,32 mg Cibazol mit dem Harn ausgeschieden.

Im Blute sind bereits 1 Minute nach der intramuskulären Cibazolinjektion bestimmte Cibazolmengen zu ermitteln.

---

[11] Druey, J., u. R. Meier: Schweiz. med. Wschr. **72**, 316 (1942). — [12] Havemann, R.: Biochem. Z. **301**, 105 (1939).

Nach Injektion von 16 mg/kg waren z. B. nach 1 Minute 0,7 mg% Cibazol nachweisbar, d. h. es kreisen im Blute 1,1 mg. Wenn im folgenden von den im Blute kreisenden Cibazolmengen die Rede ist, so ist die Gesamtblutmenge nach Douglas[13] mit $^1/_{20}$ des Körpergewichts des betreffenden Tieres in Rechnung gestellt. Die Cibazolkonzentration im Blute ist bedingt durch die resorbierte Cibazolmenge und die Quantitäten, die in die Gewebe bzw. den Harn abwandern oder zerstört werden.

Nach intramuskulärer Injektion von 13—20 mg Cibazol pro kg werden die Höchstkonzentrationen im Blute durchschnittlich nach 30 Minuten nach der Injektion festgestellt. Es kreisen dann etwa 5—15 mg Cibazol im Blute, d. h. $^1/_8$—$^1/_5$ der injizierten Cibazolmenge. Mit dem Beginn der Ausscheidung des Cibazols durch den Harn und wahrscheinlich vor allem durch Abwanderung von Cibazol in die Gewebe nehmen die Blutkonzentrationen nach Erreichung des Maximums schon innerhalb der ersten Stunde nach der Injektion beträchtlich ab. 12 Stunden nach der Injektion kreisen noch durchschnittlich 0,3 mg Cibazol im Blute und 23 Stunden nach der Injektion sind noch Spuren, in einem Fall deutlich erfaßbare Mengen feststellbar. Wahrscheinlich werden, da die Ausscheidung viel länger dauert, über längere Zeit Cibazolmengen in den Geweben zurückgehalten, in jedem Fall mehr als 50% der eingegebenen Mengen nach Maßgabe der in 12 Stunden mit dem Harn ausgeschiedenen Cibazolmengen.

Die als Acetylderivat im Blute und Harn ermittelten Cibazolmengen betragen durchschnittlich 20% des jeweils bestimmten Gesamtwertes an Cibazol, entsprechend den Befunden von Simesen[14].

Im Anschluß an die Versuche mit intramuskulärer Injektion wurden fünf weitere mit rectalen Cibazoleinläufen angestellt.

Versuche mit rectalen Cibazoleinläufen.

Die Kaninchen erhielten durchschnittlich 15 mg Cibazol/kg in der geschilderten Weise rectal, also etwas kleinere Dosen als sie durch intramuskuläre Injektion verabreicht worden waren. Die ersten genau feststellbaren Cibazolmengen erschienen $^1/_2$—1 Stunde nach der Injektion im Harn. Stündlich werden stets nur wenige Milligramm ausgeschieden. Die größten Cibazolmengen, die im allgemeinen während der 1. Stunde nach der Injektion auftraten, betragen durchschnittlich 2—5 mg, also $^1/_{20}$—$^1/_8$ der ausgeschiedenen Gesamtmenge, d. h. weniger als nach intramuskulärer Injektion. Anschließend werden stündlich kleinere Mengen sezerniert. Daher zieht sich die Ausscheidung des Cibazols ähnlich wie nach intramuskulärer Injektion 5—6 Tage hin. Erst nach 24 Stunden ist die Hälfte der ausgeschiedenen Gesamtmenge mit dem Harn sezerniert.

---

[13] Douglas, C. H.: J. Physiol. (Brit.) **33**, 493 (1906). — [14] Simesen, M. H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **197**, 429 (1941).

Rund 20 % werden in acetylierter Form ausgeschieden. Die Ausscheidungsgröße ist 86 %, liegt demnach etwas höher als nach intramuskulärer Injektion. Die Ausscheidungsintensität beläuft sich auf 0,3—0,4, entspricht also etwa der nach intramuskulärer Injektion.

Gemäß der verhältnismäßig geringen anfänglichen Cibazolausscheidung mit dem Harn werden die Maxima im Blute schon 10—15 Minuten nach der rectalen Eingabe der Cibazollösung erreicht. Es kreisen dann entsprechend der intramuskulären Applikation 5—11,5 mg Cibazol im Blute, d. h. etwa $^1/_8$—$^1/_4$ der angewandten Cibazolmenge. In zwei von vier Versuchen waren nach 24 Stunden nach der Eingabe noch 0,12—0,17 mg% Cibazol im Blute nachweisbar, d. h. es kreisen 0,2—0,6 mg Cibazol im Blute, in einem 3. Fall nur Spuren. 30 Stunden nach der Eingabe war bei keinem Versuch mehr Cibazol im Blute festzustellen. Die Werte für die Acetylprodukte lagen hier wiederum durchschnittlich um 20 % höher als die für das reine Cibazol gefundenen. Überblicken wir die Ausscheidungskurve und die Cibazolkonzentrationen im Blute nach intramuskulärer Injektion und nach rectaler Verabreichung etwa derselben gelösten Cibazolmengen, so zeigt sich, daß die Resorption bei beiden Arten der Applikation ähnlich verläuft. Wie sich Resorption und Ausscheidung nach Anwendung des Cibazols in Suppositorienform verhalten, sollen die folgenden Versuche zeigen.

Versuche mit Suppositorien.

In der I. Reihe von fünf Versuchen, in denen die Kaninchen 15—22 mg Cibazol pro kg in Suppositorien rectal verabreicht erhielten, zeigte sich, daß die Resorption erheblich geringer war, als wenn das Tier 13—20 mg Cibazol/kg intramuskulär oder in Form eines rectalen Einlaufs erhalten hätte. Es wurden daher Versuche mit steigenden Cibazolmengen in Suppositorien angestellt, und zwar in der Reihe II vier Versuche mit 30—51 mg Cibazol/kg und in Reihe III ebenfalls vier Versuche mit 60—80 mg Cibazol pro kg Kaninchen.

Die Ausscheidung verlief im allgemeinen bei allen drei Versuchsreihen unregelmäßig. Die ersten Cibazolmengen waren nach Maßgabe der Diurese, die meist gering war, nach 30 Minuten bis 2 Stunden nach der Applikation der Suppositorien im Harn festzustellen. Die größten Mengen zeigten sich in fünf Fällen, während der 1. oder 2. Stunde nach der Eingabe des Suppositoriums, in den übrigen Fällen erst nach der 5.—6. Stunde. Maximal wurden innerhalb 1 Stunde bei Reihe I 3—5 mg, bei Reihe II 3,5—5,6 mg, bei Reihe III 6,6—12,7 mg Cibazol ausgeschieden. Die Ausscheidungskurve zeigte im allgemeinen einen flachen Verlauf. Die Ausscheidungsdauer betrug nach 15—22 mg Cibazol pro kg (Reihe I) 7—12 Tage, nach 30—51 mg Cibazol pro kg (Reihe II) 12—13 Tage, nach 60—80 mg Cibazol pro kg (Reihe III) 15—17 Tage.

Die Ausscheidungsgröße belief sich bei Reihe I auf durchschnittlich 88, bei Reihe II und III auf 74 bzw. 76%. Die Ausscheidungsintensität beträgt bei Reihe I 0,3, bei Reihe II 0,3—04, bei Reihe III 0,5—0,6, sie wächst also mit der Gabengröße. Von den sezernierten Cibazolmengen wurden wieder etwa 20% in acetylierter Form ausgeschieden.

Im Blute werden die höchsten Cibazolmengen 10—45 Minuten nach der Applikation unabhängig von der Gabengröße gefunden, denn bei Reihe I wie bei Reihe III waren in einigen Versuchen bereits nach 10 Minuten die Höchstkonzentrationen festzustellen. Im Blute kreisen maximal bei Reihe I (nach 15—22 mg/kg) 3,1—5 mg, bei Reihe II (nach 30—51 mg pro kg) 4—7,2 mg, bei Reihe III (nach 60—82 mg/kg) 8—13 mg Cibazol. Bestimmt feststellbare Mengen waren bei Reihe I noch nach 23—24 Stunden nachzuweisen, es kreisen dann noch im Blute 0,33—0,17 mg Cibazol, nach 30 Stunden nur noch Spuren.

Bei Reihe II zeigten sich noch nach 36 bzw. 48 Stunden 0,275—0,36 mg Cibazol im Gesamtblut, Spuren nach 36—48 Stunden.

Bei Reihe III waren nach 48 Stunden 0,13—0,31 mg Cibazol im Gesamtblut festzustellen, Spuren noch nach 72 Stunden nach der Eingabe.

Bei den Suppositorienversuchen lagen die Werte für das Acetyl-Cibazol im Blute um durchschnittlich etwa 30% über denen, die als reines Cibazol ermittelt wurden.

Wie sich Resorption und Ausscheidung des Cibazols nach intramuskulärer Injektion verhalten zu der nach rectaler Applikation in Form von Einläufen bzw. Suppositorien soll im folgenden an Hand der Tabelle 1 besprochen werden.

Vergleichung von Resorption und Ausscheidung des Cibazols nach intramuskulärer Injektion und nach rectaler Applikation in Form von Einläufen und Suppositorien.

Tabelle 1.

1	2	3	4	5	6	7
Art der Applikation	mg/kg	Maximale Cibazolmengen im Blute in mg 10—45′ nach der Applikation	Nach Stunden	mg Cibazol im Blute	Spuren Cibazol im Blute nach Stunden	Dauer der Ausscheidung m. d. Harn in Tagen
Intramuskuläre Injektion	13—20	5 —15	12 23	0,4 —0,24 0,29	23—24	4— 7
Suppositorien Versuchsreihen	I. 15—22	3,1— 5	23—24	0,33—0,17	30	7—12
	II. 30—51	4 — 7,2	36—48	0,36—0,27	36—48	12—13
	III. 60—80	8 —13	48—60	0,31—0,13	60—72	15—17

Aus der Tabelle 1 geht hervor (Spalte 1 und 2): Es wurden intramuskulär 13—20 mg Cibazol pro kg Kaninchen injiziert. Dem entsprechen die Versuche mit den rectalen Cibazoleinläufen. In Form von Suppositorien

kamen zur Anwendung 1. dieselben (Reihe I), 2. die doppelten (Reihe II) und schließlich die vierfachen Cibazolmengen (Reihe III) der bei intramuskulärer Injektion angewandten. Wird die einfache oder doppelte intramuskuläre Cibazoldosis in Suppositorienform rectal appliziert, so werden im Blute nicht die Höchstkonzentrationen an Cibazol erreicht wie nach intramuskulärer Injektion (vgl. Spalte 3, Tabelle 1), wohl aber kreisen im Blute nach 15—22 mg Cibazol pro kg (Reihe I) nach 23—24 Stunden etwa dieselben, nach 30—51 mg pro kg (Reihe II) nach 36—48 Stunden nach der Applikation größere Cibazolmengen im Blute als nach intramuskulärer Injektion von 13—20 mg Cibazol pro kg Kaninchen (vgl. Spalte 4 und 5 Tabelle 1). Entsprechend sind auch länger Cibazolspuren im Blute nachweisbar (Spalte 6) und die Ausscheidung zieht sich über 7—13 Tage hin, gegenüber 4—7 Tagen (Spalte 7) nach intramuskulärer Injektion.

Etwa dieselben Höchstkonzentrationen an Cibazol im Blute wie nach intramuskulärer Injektion von 13—20 mg Cibazol pro kg werden nach 60—80 mg Cibazol pro kg, rectal als Suppositorien verabreicht, erhalten (vgl. Spalte 3, Tabelle 1). Nach 48 Stunden kreisen im Blute dieselben Mengen wie nach 24 Stunden nach intramuskulärer Injektion (Spalte 4 und 5, Tabelle 1). Nach 72 Stunden sind noch Cibazolspuren im Blute nachweisbar, also wesentlich länger als nach intramuskulärer Injektion von 13—20 mg Cibazol pro kg, wo schon nach 23—24 Stunden nur Cibazolspuren im Blute gefunden wurden (Spalte 6, Tabelle 1). Die Dauer der Ausscheidung beträgt bei Suppositorienanwendung (Reihe III) 15—17 Tage (Spalte 7, Tabelle 1), gegenüber 4—7 Tagen nach intramuskulärer Injektion.

Die Cibazolkonzentrationskurven im Blute verlaufen bei jeder Versuchsgruppe, die bei intramuskulärer Injektion 9, bei rectalem Einlauf und bei den drei Versuchsreihen mit Suppositorien mindestens je vier Versuche umfaßte, grundsätzlich ähnlich, so daß sie in ihrem charakteristischen Verlauf leicht graphisch dargestellt werden können, was in den folgenden drei Abbildungen geschehen ist. Sie geben ein Bild der Cibazolresorption bei den in Frage stehenden Applikationsarten, und zwar Abb. 1 bei intramuskulärer Injektion. Ihr entspricht etwa die Konzentrationskurve des Cibazols bei rectalem Einlauf. Abb. 2 zeigt die Cibazolkonzentrationen im Blute nach Anwendung etwa derselben Dosis in Suppositorienform und Abb. 3 in der gleichen Weise nach der vierfachen Cibazolmenge. Die Ordinate bezeichnet in allen drei Abbildungen die Cibazolkonzentrationen im Blute in mg%, die Abszisse gibt die Zeit in Stunden an, die punktierten Linien die erhaltenen Gesamtwerte an Cibazol = reines Cibazol + Acetyl-Cibazol. Die oben dargelegten Unterschiede in der Resorption nach den in Frage stehenden Applikationsarten gehen klar aus den drei Abbildungen hervor. Darüber hinaus ist aus Abb. 1 zu ersehen, daß der acetylierte Anteil in der ersten Stunde am größten ist und anschließend rasch sinkt, so daß nach 24 Stunden auch kein Acetyl-Cibazol mehr festzustellen ist.

Dem entsprechen auch unsere Beobachtungen nach rectalem Einlauf. Aus Abb. 2 und 3 geht ebenso noch hervor, daß nach rectaler Applikation des Cibazols der acetylierte Anteil im Blute höher ist als nach intramuskulärer

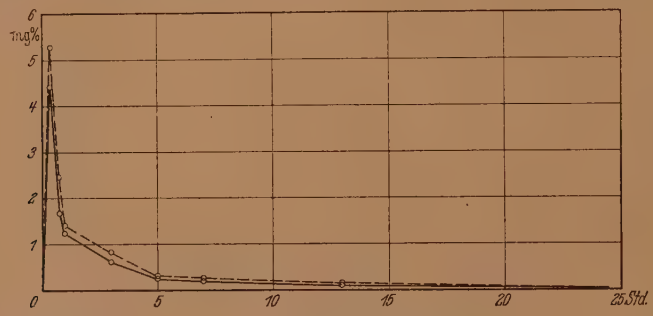


Abb. 1. Cibazolkonzentrationen im Blute nach intramuskulärer Injektion. Weitere Erläuterungen siehe Text.

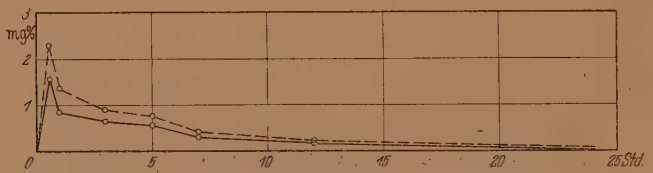


Abb. 2. Cibazolkonzentrationen im Blute nach rectaler Anwendung der intramuskulären Dosis in Suppositorienform. Weitere Erläuterungen siehe Text.

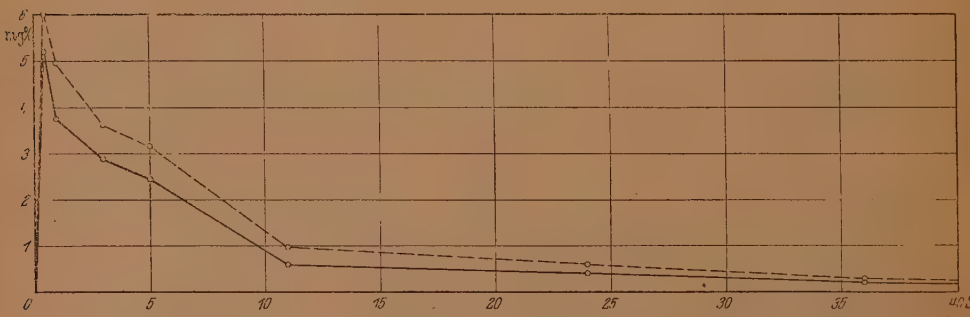


Abb. 3. Cibazolkonzentrationen im Blute nach rectaler Anwendung der vierfachen intramuskulären Dosis in Suppositorienform. Weitere Erläuterungen siehe Text.

Injektion und sich auch viel länger über dem Spiegel des reinen Cibazols hält.

Das Cibazol kreist überhaupt nach allen untersuchten Arten der Applikation lange im Blute, ebenso zieht sich die Ausscheidung lange hin, wenn man ähnliche Versuche mit salicylsaurem Natrium, wie sie früher durchgeführt wurden, vgl. Blume und Mitarbeiter[6,7], zur Vergleichung heranzieht: Nach intramuskulärer Injektion von 13—16 mg Cibazol pro kg

sind 50 % der ausgeschiedenen Gesamtmenge nach 4—24 Stunden sezerniert. Die Ausscheidung dauert 4—7 Tage. Dagegen sind nach intramuskulärer Injektion von 100 mg Natriumsalicylat, also der zehnfach molaren Menge, 50 % der ausgeschiedenen Gesamtmenge nach 3—5 Stunden sezerniert. Die Ausscheidung dauert nur 24 Stunden. Die höchsten Konzentrationen im Blute an Cibazol wie an Salicylsäure werden 30 Minuten nach der Injektion erreicht. Im Blute kreisen dann vom Cibazol $^1/_8$—$^1/_5$, von der Salicylsäure $^1/_{25}$—$^1/_{12}$ der injizierten Dosis. Entsprechend hält sich das Cibazol länger im Blute, so daß nach 23—24 Stunden noch Spuren im Blute nachweisbar sind. Der Salicylsäurespiegel ist bereits nach 5 Stunden nach der Injektion so weit gesunken, daß sich nur Spuren feststellen lassen.

Die Ausscheidungsgröße beträgt in beiden Fällen 75 %. Die Ausscheidungsintensität beim Cibazol 0,32, bei der Salicylsäure dagegen 7,7.

Ähnliche Unterschiede ergeben sich bei der Vergleichung der Resorption und Ausscheidung von Cibazol und Salicylsäure nach Eingabe in Form von rectalen Einläufen.

Für die therapeutische Anwendung des Cibazols ist es von großer Bedeutung, daß im Gegensatz zur Salicylsäure die Resorption viel rascher erfolgt als die Ausscheidung. Es ist auch weiterhin von Bedeutung, daß eine Zerstörung des Cibazols im Organismus in viel geringerem Maße eintritt, als es z. B. bei der Salicylsäure der Fall ist. Bei der Salicylsäure kann man die Beobachtung machen, daß, je länger sich die Ausscheidung hinzieht, die Ausscheidungsgröße um so mehr abnimmt. Beim Cibazol werden weitgehend unabhängig von der Ausscheidungsdauer prozentual etwa dieselben Mengen der Substanz ausgeschieden.

Zusammenfassung.

Nach intramuskulärer Injektion von 13—20 mg Cibazol pro kg Kaninchen, entsprechend je nach dem Tiergewicht einer Dosis von 1 g für einen 70 kg schweren Menschen, war die Substanz etwa 15 Minuten nach der Einspritzung im Harn nachzuweisen. Die Ausscheidungskurve erreichte innerhalb der 1. und 2. Stunde nach der Applikation ihr Maximum. Anschließend fiel sie allmählich ab.

Die Ausscheidungsgröße = ausgeschiedene Gesamtmenge belief sich auf durchschnittlich 75 %. Die Ausscheidungsintensität = Ausscheidungsgröße : Ausscheidungszeit auf 0,32; d. h. durchschnittlich werden pro Stunde 0,32 mg Cibazol mit dem Harn ausgeschieden.

Bei rectalen Einläufen etwa derselben Cibazolmengen als Natriumsalz verläuft die Resorption ähnlich.

Etwa dieselben Höchstkonzentrationen an Cibazol im Blute wie nach intramuskulärer Injektion von 13—20 mg Cibazol pro kg werden nach 60—80 mg Cibazol pro kg, rectal als Suppositorien verabreicht, erhalten. Noch nach 48 Stunden nach der Applikation kreisen im Blute dieselben

Mengen wie nach 24 Stunden nach intramuskulärer Injektion. Nach 72 Stunden sind noch Cibazolspuren im Blute nachweisbar, also wesentlich länger als nach intramuskulärer Injektion von 13—20 mg Cibazol pro kg, wo schon nach 23—24 Stunden nur Cibazolspuren im Blute gefunden werden.

Die Ausscheidungsgröße entsprach der nach intramuskulärer Injektion. Die Ausscheidungsintensität betrug aber 0,5—0,6. Die Dauer der Ausscheidung belief sich bei Suppositorienanwendung von 60—80 mg pro kg auf 15—17 Tage, nach intramuskulärer Injektion auf 4—7 Tage.

Im Gegensatz zu früheren eigenen ähnlichen Untersuchungen mit intramuskulärer und rectaler Applikation der Salicylsäure erfolgt beim Cibazol die Resorption viel rascher als die Ausscheidung.

Das Cibazol wird in viel geringerem Maße im Organismus zerstört als die Salicylsäure.

Bei der Salicylsäure kann man die Beobachtung machen, daß je länger sich die Ausscheidung hinzieht, die Ausscheidungsgröße um so mehr abnimmt.

Beim Cibazol werden weitgehend unabhängig von der Ausscheidungsdauer prozentual etwa dieselben Mengen der Substanz ausgeschieden.

Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für Arbeitsphysiologie, Dortmund.

Tabakgenuß und Adrenalinspiegel.

Von

Gunther Lehmann und **Hans Ferdinand Michaelis.**

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 26. Juli 1943.)

Die allgemein verbreitete Ansicht, daß durch Nikotin, und daher auch durch das Rauchen von nikotinhaltigem Tabak eine Steigerung der Adrenalinsekretion hervorgerufen wird, beruht auf Durchströmungsversuchen an der isolierten Nebenniere und auf Versuchen am intakten Tier. [Literatur siehe bei Lickint (1).] Die Tatsache, daß hierbei Nikotinkonzentrationen verwendet wurden, die weit höher waren als sie beim Rauchen je vorkommen können, wurde um so weniger beachtet, als die beim Rauchen beobachteten Kreislauferscheinungen sich größtenteils mit der Annahme einer erhöhten Adrenalinsekretion gut vereinbaren ließen. Erst neuere Arbeiten weisen darauf hin, daß der Tabakgenuß keineswegs zu einem einseitigen Überwiegen des Sympathicus führt, daß vielmehr oft unkoordinierte Störungen auftreten, die weder eindeutig ergotrop noch histotrop sind. [Steinmann und Voegeli (2) (3), Schliephake und Renk (4).] Fortlaufende Bestimmungen des Adrenalingehalts im menschlichen Blute beim Tabakgenuß wurden durch die von uns (5) angegebene Methode der fluorimetrischen Adrenalinbestimmung ermöglicht.

Es wurden folgende Tabakwaren untersucht:

		Nikotingehalt:	
I. Zigarren:	1. Virginier	3,00 %	der Trockensubstanz
	2. Rubinos	2,13 %	„ „
	3. Vademecum	1,54 %	„ „
	4. natürlich nikotinarm	0,75 %	„ „
II. Zigaretten:	1. Roth-Händle	1,96 %	„ „
	2. North-State	1,51 %	„ „
	3. Juno	0,90 %	„ „
	4. natürlich nikotinfrei	0,00 %	„ „
III. Pfeifentabake:	1. Schwarzer Krauser	1,43 %	„ „
	2. Translanta	0,91 %	„ „
	3. Tip-Top	0,66 %	„ „
IV. Kautabake:	Hanewacker, dünn	2,16 %	des Frischgewichtes

Die Nikotinbestimmungen wurden durch die Reichsanstalt für Tabakforschung in Forchheim durchgeführt, die auch die natürlich nikotinfreien bzw. nikotinarmen Sorten zur Verfügung stellte. Wir danken Herrn Professor Dr. König für die hierdurch gewährte freundliche Unterstützung.

Um zu streng vergleichbaren Werten zu kommen, wurden die Blutentnahmen zur Adrenalinbestimmung stets nach dem gleichen Schema durchgeführt. Die

Untersuchung erfolgte morgens nach dem Frühstück, ohne daß an dem betreffenden Tage vorher geraucht wurde. Vor und während der Versuche wurden körperliche Anstrengungen sowie psychische Störeinflüsse nach Möglichkeit vermieden. Der Aufenthalt erfolgte in einem halbdunklen Raum. Die Reihenfolge der einzelnen Blutentnahmen ergibt sich aus den nachfolgenden Kurven.

In Abb. 1 sind die Ergebnisse an einer Versuchsperson beim Rauchen der vier Zigarrensorten wiedergegeben. Jede Kurve ist eine Durchschnittskurve aus fünf gut übereinstimmenden Einzelversuchen. Die Höhe des Adrenalinspiegels ist in Prozenten der von Tag zu Tag Schwankungen unterworfenen Ausgangswerte angegeben. Die Versuche an anderen Versuchspersonen stimmten mit den abgebildeten in allen wesentlichen Einzelheiten, vor allem hinsichtlich der Rangordnung der untersuchten

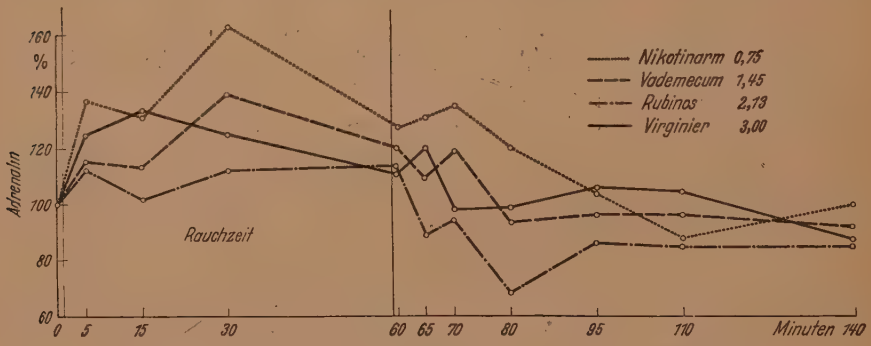


Abb. 1. Änderung des Blutadrenalinspiegels durch das Rauchen von Zigarren.

Sorten überein. Typisch an dem Kurvenverlauf ist ein Anstieg des Adrenalingehalts bis etwa zur 30. Minute, dann erfolgt ein allmählicher Abfall. Der Anstieg ist bei weitem am stärksten bei den nikotinarmen Zigarren. Bei den nikotinreichen Rubinos ist er dagegen nur eben angedeutet. Die nikotinreiche Virginier zeigt zwar erst einen relativ hohen Anstieg, dann aber niedrige Werte. Nach dem Ende der Zigarre sinkt der Adrenalinspiegel bei den nikotinfreien Zigarren langsam weiter ab, bei den nikotinreichen, vor allem bei der Sorte Rubinos, erfolgt eine erheblich steilere Senkung bis unter den Ausgangswert, der erst eine halbe bis 1 Stunde nach dem Ende des Rauchens wieder erreicht wird. Entgegen den Erwartungen entspricht also die Steigerung des Adrenalingehalts nicht dem Nikotingehalt, sondern verhält sich gerade umgekehrt.

Typisch für die Nikotinwirkung kann also nicht, wie bisher angenommen wurde, die Erhöhung des Adrenalingehalts sein, sondern seine Senkung, während die Erhöhung eine andere, bisher noch nicht aufgeklärte Ursache haben muß. Die Adrenalinsteigerung ist keine Nikotinwirkung und klingt nach dem Ende des Rauchens schnell ab. Dagegen bleibt die Nikotinwirkung länger bestehen und kann noch nach dem Ende der Zigarre

zu einer Senkung des Blutadrenalins unter den Ausgangswert führen. Während des Rauchens der zweiten Hälfte der Zigarre steigt bekanntlich die zur Resorption gelangende Nikotinmenge allmählich an. Der adrenalinsteigernde Faktor wird daher von der senkenden Wirkung des Nikotins allmählich überkompensiert. Diese Tatsache ist besonders deutlich an der Virginierkurve erkenntlich, bei der dank der langgestreckten Form die Nikotinfilterwirkung zunächst besonders gut ist, so daß trotz des hohen Nikotingehalts die adrenalinsteigernde Wirkung überwiegt, während am Ende der Zigarre die Kurve entsprechend dem Nikotingehalt absinkt.

Mit diesen beim Rauchen von Zigarren gewonnenen Vorstellungen stimmen die Ergebnisse beim Zigarettenrauchen (Abb. 2) gut überein.

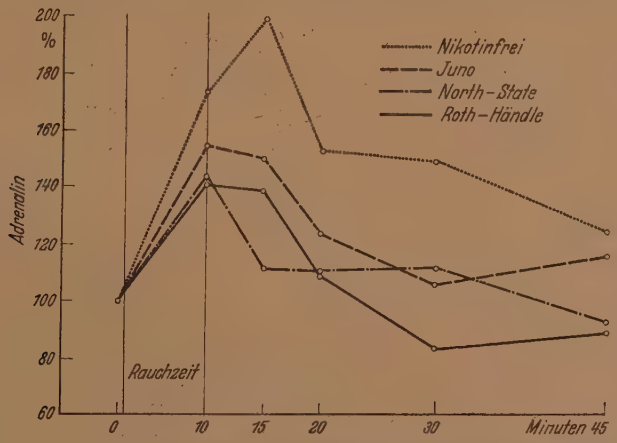


Abb. 2. Verlauf des Blutadrenalinspiegels während und nach dem Rauchen von Zigaretten.

Auch hier bedeutet jede Kurve den Durchschnitt von fünf Einzelversuchen an der gleichen Versuchsperson.

Bei allen Zigaretten steigt der Adrenalingehalt während des Rauchens an, am steilsten bei den nikotinfreien Zigaretten, am wenigsten bei den schweren Sorten. Die nikotinfreien setzen ihren Anstieg nach dem Ende der Zigarette noch fort, um dann erst schnell, später langsam zu sinken. Nach 30 Minuten ist der Ausgangswert noch nicht voll erreicht. Eine scharfe Senkung nach dem Ende der Zigarette zeigt die relativ schwere North-State, ein Absinken unter den Ausgangswert tritt bei der nikotinreichen Roth-Händle-Zigarette auf.

Versuche mit Zigaretten führten wir an einer größeren Zahl von Versuchspersonen durch, darunter befanden sich relativ starke Raucher, aber auch junge Mädchen, die in ihrem Leben fast noch nicht geraucht hatten. Bei allen Versuchspersonen verliefen die Kurven jedoch grundsätzlich gleichartig, so daß wir auf eine Wiedergabe verzichten können.

Bei den Versuchen mit Pfeifentabaken stimmten die Einzelversuche wesentlich schlechter untereinander überein als bei den Zigarren und Zigaretten. Abb. 3 gibt wiederum Durchschnittskurven aus je fünf Einzelversuchen an einer Versuchsperson wieder. Typisch ist auch hier, daß die Kurven der schwersten Tabaksorten am tiefsten liegen und daß in den meisten Fällen während des Rauchens ein Anstieg, nach dem Ende des Rauchens ein Absinken des Adrenalingehalts des Blutes eintritt. Das

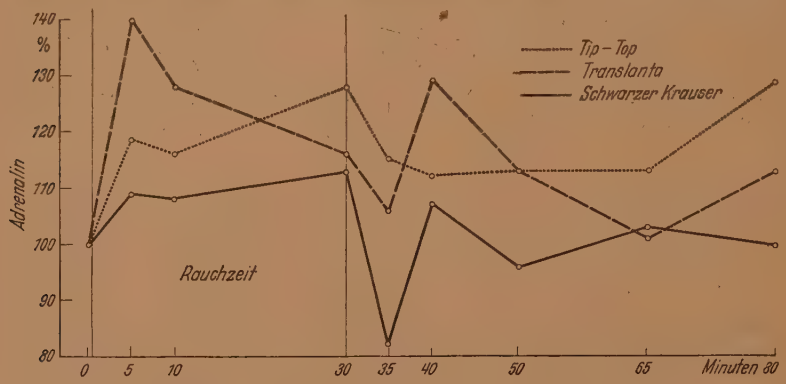


Abb. 3. Einfluß des Tabakrauchens auf den Adrenalingehalt des Blutes.

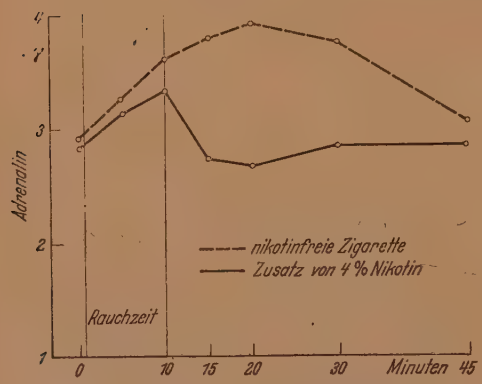


Abb. 4. Änderung der Adrenalinblutkurve beim Zigarettenrauchen durch künstlichen Nikotinzusatz.

unregelmäßige Verhalten des Adrenalingehalts im Vergleich zu Zigarren und Zigaretten führen wir darauf zurück, daß die zur Resorption gelangenden Nikotinmengen beim Pfeifenrauchen stark von der Temperatur der Pfeife und dem dadurch bedingten Kondensieren bzw. Wiederverdampfen des Nikotins abhängen.

Wenn die Vorstellung richtig ist, daß beim Rauchen eine Erhöhung des Adrenalingehalts nicht durch Nikotin, sondern durch einen anderen Faktor eintritt, während das Nikotin eine Senkung macht, so muß es möglich sein, durch Nikotinzusatz die adrenalinsteigernde Wirkung einer nikotinfreien Zigarette in die Wirkung einer nikotinhaltigen überzuführen. In Abb. 4 sind zwei entsprechende Kurven dargestellt. Die Kurve 1 wurde mit einer nikotinfreien Zigarette gewonnen, Kurve 2 am nächsten Tage mit einer Zigarette der gleichen Sorte, die durch Einspritzen von Nikotin auf einen Nikotingehalt von 4 % gebracht worden war. Die Kurve der

nikotinfreien ändert sich hierdurch und nimmt den Typus an, den wir bei den nikotinreichen Zigaretten kennengelernt haben.

Besonders aufschlußreich in bezug auf die Trennung der beiden wirksamen Faktoren beim Rauchen waren die Untersuchungen über Kautabak. Abb. 5 bringt zwei von zwei Versuchspersonen stammende Durchschnittskurven in Absolutwerten und eine aus diesen beiden Kurven zusammengezogene dritte Kurve in Prozenten des Ausgangswertes. Die Kurven zeigen ebenso wie ausnahmslos alle an anderen Versuchspersonen gewonnenen Einzelkurven eine Senkung des Adrenalingehalts während des Kauens. Einige Minuten nach dem Entfernen des Kaustiftes steigt der Adrenalingehalt des Blutes an und liegt dann meist etwas über dem Ausgangswert, wahrscheinlich aber nur deshalb, weil die Versuche am Morgen

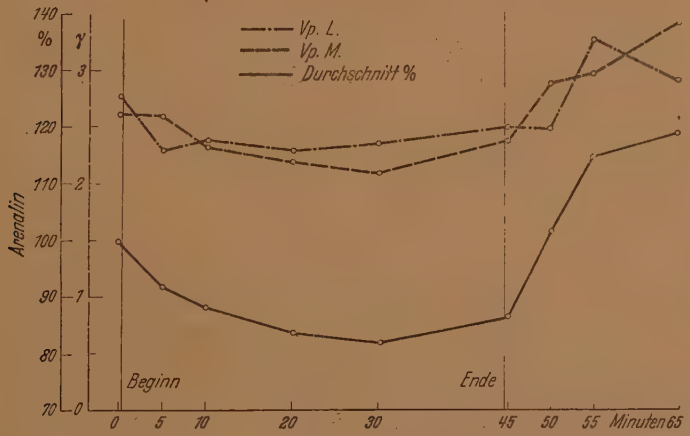


Abb. 5. Die Wirkung des Tabakkauens auf den Adrenalingehalt des Blutes.

d. h. zu einer Zeit durchgeführt wurden, in der der Adrenalingehalt stets leicht anzusteigen pflegt. Wir können also feststellen, daß beim Genuß von Kautabak die beim Rauchen vorhandene positive Wirkung auf den Adrenalingehalt fehlt, die negative vom Beginn bis zum Ende des Kauens voll zur Geltung kommt.

Aus den Versuchen ergibt sich, daß beim Rauchen zwei deutlich voneinander trennbare Wirkungen auf das vegetative Nervensystem vorhanden sind. Die eigentliche Nikotinwirkung führt zu einer Senkung des Adrenalingehalts. Ihr zuzuschreiben sind die vagischen Symptome, die von verschiedenen Autoren als Wirkung des Rauchens gefunden wurden. Daneben aber gibt es einen zweiten Faktor, der den Adrenalinspiegel erhöht, dem also eine anregende, ergotrope Wirkung zukommt, deren Auswirkungen ebenfalls im Kreislaufgeschehen erkennbar sind. Soweit wir gleichzeitig mit den Adrenalinkurven Pulskurven gewannen, erhielten wir meist eine weitgehende Parallelität beider Kurven.

Über die Natur des beim Rauchen auftretenden ergotropen Faktors können wir zunächst kaum Vermutungen äußern; da er beim Tabakkauen fehlt, so muß seine Entstehung mit dem Verbrennungsprozeß zusammenhängen. Daß es sich dabei nicht um Kohlenoxydwirkung handeln kann, zeigten entsprechende Versuche mit Einatmung kleiner CO-Mengen.

Von einer gewissen praktischen Bedeutung wird die Erkenntnis sein, daß der ergotrope Faktor, dessen anregende Wirkung namentlich von Zigarettenrauchern in erster Linie gesucht wird, vom Nikotin unabhängig ist. In der natürlich nikotinfreien Zigarette kommt dieser Faktor sogar viel stärker zur Geltung als bei der nikotinhaltigen. Nikotinfreie Zigaretten und Zigarren sind demnach nicht ein wirkungsloser Ersatz der nikotinhaltigen, sondern ein Genußmittel von einer viel eindeutigeren und einheitlicheren Wirkung als nikotinhaltige Zigarren oder Zigaretten. Wenn, was allerdings noch bewiesen werden muß, die Gefahr einer Dauerschädigung nur von seiten des Nikotins, nicht jedoch von seiten des ergotropen Faktors droht, so kann in den nikotinfreien Tabaksorten ein insbesondere für den Vagotoniker geeignetes Anregungsmittel gesehen werden. Leider sind bisher die nikotinfreien Zigarren und Zigaretten geschmacklich noch nicht voll befriedigend.

Zusammenfassung.

Mit der fluorimetrischen Bestimmungsmethode wird der Einfluß des Tabakgenusses auf den Adrenalingehalt des Blutes untersucht. Der Anstieg des Adrenalinspiegels während des Rauchens ist um so größer, je weniger Nikotin die Zigarre oder Zigarette enthält. Schwere Sorten ließen nach dem Rauchen eine Senkung erkennen. Tabakkauen führte nur zu einer Senkung des Adrenalinspiegels. Aus den Versuchen wird geschlossen, daß Nikotin den Adrenalinspiegel senkt, jedoch entsteht bei der Tabakverbrennung ein ergotropwirkender Faktor, der in nikotinfreien Tabaksorten allein zur Geltung kommt.

Literatur.

1) Lickint, F.: Tabak und Organismus. Stuttgart 1939. — 2) Steinmann, B., u. H. Voegeli: Dtsch. Arch. klin. Med. **189**, 303 (1942). — 3) Steinmann, B., u. H. Voegeli: Ebenda **189**, 319 (1942). — 4) Schliephake u. F. Renk: Dtsch. med. Wschr. **69**, 245 (1943). — 5) Lehmann, G., u. H. F. Michaelis: Arb.physiol. **12**, 52 (1942).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Innsbruck.
(Direktor: Professor Dr. A. Jarisch.)

Über die Auslösung des Bezoldeffektes durch Mistel*.

Von

C. Job.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 18. August 1943.)

Der Bezoldeffekt (B. E.) ist als ein propriozeptiver, vom Herzen ausgehender Schutzreflex zu bewerten, dem die Aufgabe zufällt, das Verhalten des Kreislaufes, sowie des ganzen Körpers auf den Zustand und die Leistungsfähigkeit des Herzmuskels abzustimmen. Er wurde von Jarisch und Henze[1] bei pharmakologischen Untersuchungen über die Mistel aufgefunden und erhielt seinen Namen, weil bereits v. Bezold 1869 eine ähnliche Erscheinung beim Veratrin beobachtet hatte[2]. Beide Stoffe lösen einen Kreislaufentlastungsreflex aus; ein Unterschied besteht jedoch darin, daß die Wirkung des Veratrins flüchtig ist, während die der Mistel lange Zeit anhält.

Der Mechanismus der Auslösung durch Veratrin kann als geklärt gelten. Nachdem Bacq[3] in Versuchen am Froschmuskel gefunden hatte, daß das Veratrin für die Wirkung von K- und anderen Ionen sensibilisiert, zeigten Amann und Jarisch[4], daß der B. E. auch durch KCl, $BaCl_2$ und RbCl ausgelöst werden kann, wenn man es Katzen injiziert, die mit kleinen Veratrindosen vorbehandelt worden sind. Danach ist die Annahme gerechtfertigt, daß das Veratrin den B. E. dadurch hervorruft, daß es die Rezeptoren im Herzen sensibilisiert, worauf diese durch die bei der Muskelkontraktion freiwerdenden K-Ionen erregt werden. Darüber hinaus kann angenommen werden, daß das Kalium überhaupt den physiologischen Erregungsstoff für den B. E. darstellt, da es einerseits bei Erregungsvorgängen eine große Rolle spielt und andererseits bei Schädigungen der Zellen und stärkeren Veränderungen ihres Funktionszustandes aus dem Zellinneren austritt.

Wie erfolgt nun die Auslösung des B. E. durch die Mistel? Zur Beantwortung dieser Frage prüfte ich zunächst, ob der die Wirkung bedingende Herzstoff der Mistel für K-Ionen in ähnlicher Weise sensibilisiert wie das

---

* D 304.

[1] Jarisch, A., u. C. Henze: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 706 (1937). — [2] Jarisch, A., u. H. Richter: Klin. Wschr. 1939, S. 185; Jarisch, A.: Ebenda 1941, S. 1045; Süd-dtsch. Apotheker-Z. 1943, S. 77. — [3] Bacq, Z. M.: Arch. internat. Pharmacodynam. **63**, 59 (1939). — [4] Amann, A., u. A. Jarisch: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **201**, 46 (1943).

Veratrin. Verwendet wurde ein Präparat, das nach den Angaben von Winterfeld[5], jedoch unter Weglassung der Cholesterinfällung, gewonnen worden war.

Versuche am isolierten Froschmuskel.

Diese Versuche wurden am Rectus und Sartorius von Temporarien angestellt, die in einem mit Luft durchperlten Ringerbad von 5 ccm Inhalt suspendiert waren.

Um Erfahrungen zu sammeln, wiederholte ich zunächst die Versuche von Bacq mit Veratrin für die biologisch wichtigen Ionen K, Na, Ca und Mg. Ich konnte sie, wie auch schon Harvey[6], vollkommen bestätigen. Unterschwellige Mengen von KCl riefen an Muskeln, die mit unterschwelligen Mengen von Veratrin vorbehandelt worden waren, prompt eine Kontraktur hervor. Die Gegenwirkung von Ca ließ sich sehr deutlich durch folgende Anordnung dartun: Muskeln, die durch Zusatz von 0,1 mg Veratrin in Kontraktur versetzt werden, erschlaffen sofort, wenn man 0,5 ccm 3%iges $CaCl_2$ zusetzt.

Die Mistel erzeugt, wie schon Comninos[7] feststellte, am Froschmuskel fibrilläre Zuckungen und eine tonische Kontraktur, die bald in vollständige Lähmung übergeht. Die fibrillären Zuckungen sind ebenso wie die nachfolgende Kontraktur durch Curare nicht hemmbar. Der Herzstoff der Mistel ist danach als ein muskuläres Kontrakturgift mit initialer Reizwirkung zu bezeichnen.

Für meine Zwecke hatte ich zunächst die Wirkungsschwelle des Herzstoffes zu bestimmen und fand sie bei 2,5 γ/ccm. Wurden Froschmuskeln mit dieser Menge vorbehandelt und wurde danach KCl in entsprechender Dosierung wie bei den Veratrinversuchen zugesetzt, dann blieb es ohne Einfluß. Auch auf die Ausbildung der Kontraktur durch größere Mengen sind die Ionen ohne Einfluß, insbesondere läßt sich im Gegensatz zu Veratrin kein Antagonismus von Calcium und Magnesium nachweisen. Somit ist die Wirkung der Mistel auf den Muskel nicht ionenabhängig. Damit stimmt überein, daß die Mistel die Zuckung des Froschmuskels nicht wie das Veratrin verändert (Comninos), denn auch die „Veratrinzuckung" ist nach Bacq ein Sensibilisierungseffekt und letzten Endes durch die bei der Muskelkontraktion freiwerdenden K-Ionen bedingt.

Die Auslösung des B. E. kann danach nicht durch Sensibilisierung der Rezeptoren für K erfolgen und dies konnte auch durch Versuche, die den Veratrin-KCl-Versuchen von Amann und Jarisch[4] nachgebildet waren, unmittelbar erwiesen werden. Wird nämlich bei Katzen durch vorsichtige Zufuhr des Mistelstoffes (0,1 mg des Herzstoffes alle 1—2 Minuten) ein schwacher B. E. ausgelöst und danach KCl injiziert, dann wirkt es nicht anders wie beim normalen Tier.

---

[5] Winterfeld, K.: Sci. Pharm. (Wien. pharm. Wschr.) 1938, S. 105; Dörle, E. E.: Über zwei therapeutisch wirksame Inhaltsstoffe der Mistel. Dissert. Freiburg 1938; Winterfeld, K., u. E. Dörle: Arch. Pharmaz. usw. **280**, 23 (1942). — [6] Harvey, A. M.: J. Pharmacol. **68**, 494 (1940). — [7] Comninos, St. C.: Ber. Naturforsch. Ges. Freiburg **36**, 244 (1939).

Freisetzung von Kalium durch Mistel.

Da die Mistel ein schweres Muskel- und Herzgift ist, muß die Möglichkeit ins Auge gefaßt werden, daß im Übermaß freiwerdende K-Ionen die Rezeptoren des B. E. erregen. Amann und Jarisch erklärten so das Auftreten des B. E. nach verschiedenen, den Herzmuskel schädigenden Einflüssen, unter anderen auch nach Mistel.

Der Herzstoff schädigt den Froschmuskel schwer. Die Kontraktur ist im Gegensatz zum Veratrin nicht reversibel und der Muskel stirbt bald ab; im Mikroskop sieht man Schrumpfung mit Zerstörung der Struktur. Wenn man einem frischen Zupfpräparat eine $1^0/_{00}$ige Lösung des Herzstoffes zusetzt, dann ziehen sich die Fasern sogleich zusammen; sie werden dunkel, zeigen feinkörnige Zerbröckelung der Fibrillen und es entsteht der Eindruck einer vollkommenen Entmischung des Sarkoplasmas; das Sarkolemm legt sich dabei in Falten. Untersucht man einen durch die Einwirkung des Mistelstoffes unerregbar gewordenen Froschmuskel im Gefrierschnitt, dann zeigt sich Fragmentierung und fleckförmige, kleintropfige Verfettung.

Bei einer derart schweren Schädigung der Muskelzellen war ein Austritt von Kalium zu erwarten. Zum Nachweis wurde bei einem Trendelenburgschen Froschpräparat 1 ccm einer $1^0/_{00}$igen Lösung des Herzstoffes in den Zuführungsschlauch injiziert und das Perfusat nach Bacq mit Veratrin als Indikator biologisch auf K geprüft. Die Injektion bewirkte die vorhin erwähnten fibrillären Zuckungen und später nahm die Erregbarkeit der Muskulatur ab; ferner wurde die Durchströmung gedrosselt, kam aber später wieder in Gang, wobei sich ein starkes Ödem entwickelte. Die ersten 10 ccm des Perfusates wurden aufgefangen, mit Natriumbicarbonat versetzt und für 24 Stunden in den Brutschrank gestellt, um den Mistelstoff zu zerstören; Versuche im Freiburger pharmakologischen Institut[8] hatten nämlich gezeigt, daß der Herzstoff bei alkalischer Reaktion rasch zugrunde geht. Derart behandelte Perfusate waren auf das Rectuspräparat des Frosches ohne Wirkung. Wurde jedoch das Präparat mit Veratrin $1 : 5 \cdot 10^{-6}$ vorbehandelt, dann trat eine energische Kontraktur auf, die sich durch Ca-Zusatz beheben ließ. Somit wird bei der Schädigung des Muskels durch Mistel Kalium entbunden.

Versuche über die Beeinflussung des B. E. nach Mistel durch Veratrin und Calcium.

Die zuletzt beschriebenen Versuche lassen also daran denken, daß der Bezoldeffekt nach Mistel in der Tat durch freiwerdendes K ausgelöst wird, das die Rezeptoren erregt. Dagegen spricht jedoch, daß die Leistungsfähigkeit des Herzens bei der Auslösung des B. E. nach Mistel grundsätzlich

[8] Enders, A., O. Feuchtinger u. S. Janssen: Naunyn-Schmiedebergs Arch. 196, 290 (1940).

unverändert bleibt. Erfahrungen unseres Instituts lehren, daß, wenn man den B. E. unter sorgfältiger Vermeidung von Überdosierung des Herzstoffes auslöst und danach die Vagi zur Ausschaltung des Effektes blockiert und zusätzlich auch noch die Carotiden abklemmt, ein Entzüglungshochdruck von über 250 mg Hg auftreten kann, wobei der Venendruck nicht ansteigt. Das wäre nicht möglich, wenn eine Schädigung des Myocards die Voraussetzung des Effektes wäre. Es zeigt auch das EKG. beim Einsetzen des B. E. nur eine Sinusbradycardie und keine Veränderungen, die auf einen muskulären Schaden hinweisen[9]; dieser entsteht erst nach größeren Mengen des Herzstoffes.

Daher waren weitere Versuche geboten. Sie gründeten sich auf folgender Überlegung: Wenn wirklich K der Mittler des B. E. nach Mistel wäre, dann müßte der Effekt durch Veratrin verstärkt werden, da es die Rezeptoren für K sensibilisiert. Es wurde also an der Katze sehr vorsichtig ein B. E. hervorgerufen (0,1 mg des Herzstoffes alle 1—2 Minuten bis zum Eintritt einer schwachen Wirkung) und dann wurden 20—40 γ Veratrin, deren Wirkung vorher festgestellt worden war, injiziert. Die Wirkung war nicht stärker als der einfachen Summierung von Mistel und Veratrin entsprach. Danach erscheint es wohl ausgeschlossen, daß der Mistel-B. E. durch Vermittlung von K zustande kommt.

Nun wurde ein Gegenversuch mit Ca angestellt. Amann und Jarisch[4] hatten gezeigt, daß sich der B. E. nach Veratrin durch Ca aufheben läßt und dies mit Antagonisierung der K-Wirkung erklärt, ähnlich wie sich die K-Kontraktur des Froschmuskels durch Ca beheben läßt. Es wurde also an der Katze ein kräftiger Mistel-B.E. hervorgerufen und dann Calcium (1,0 ccm 3%iges Gluconat „Sandoz") injiziert. Wie die Abb. 1 zeigt, steigt der Blutdruck sofort an und es wird der Herzschlag wieder rasch. Die Injektion von Calzium beseitigt auch, wie Amann und Schaefer[10] fanden, die für den B. E. charakteristischen Impulse in den Aktionsströmen der Herznerven. Dies erschien zunächst als eine Unstimmigkeit, da sich doch kein Anhaltspunkt für eine Beteiligung des K am Erregungsvorgang ergeben hatte, konnte aber, wie später gezeigt werden wird, in anderer Weise geklärt werden.

Daß es sich bei dieser Gegenwirkung um eine selbständige Wirkung des Ca auf den Blutdruck handelte, war von vornherein unwahrscheinlich, denn die Wirkung des Ca auf die Gefäße ist in der Richtung wechselnd und in der gebrauchten Menge gänzlich unbedeutend[11]; ebenso unwahrscheinlich war, daß das Ca den Reflexapparat außerhalb des Herzens beeinflußte, denn nach Hering[12] verstärkt die Hypercalcämie den

[9] Henze, C., u. W. Ludwig: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 694 (1937). — [10] Amann, A., u. A. Schaefer: Pflügers Arch. **246**, 757 (1943). — [11] Literatur: Hermann, H.: Ann. Physiol. (Fr.) **15**, 574—575 (1939); ferner Billigheimer, E.: Z. Klin. Med. **100**, 411 (1924); Kylin, E., u. G. Nyström: Z. exper. Med. **45**, 28 (1925); Barath, E.: Z. exper. Med. **45**, 595 (1925); Baldacci, U.: Arch. Farmacol. sper. **70**, 106 (1940). — [12] Hering, H. E.: Die Carotissinusreflexe. Dresden 1927.

Carotisreflex und nach Bouckaert[13] läßt sie ihn unbeeinflußt bzw. schwächt ihn bei sehr hohen Graden ab. — Trotzdem stellten wir den folgenden Versuch an: Es wurde der Aortennerv bei Kaninchen und Katzen faradisiert und nachdem sich der Blutdruck auf ein niedriges Niveau eingestellt hatte, wurde Ca in der gleichen Menge injiziert, in der es den Mistel-B. E. aufgehoben hatte; der Blutdruck änderte sich nicht. Damit war dargetan, daß sich die Gegenwirkung des Ca gegen die Mistel im Bereich der cardialen Rezeptoren abspielen muß.

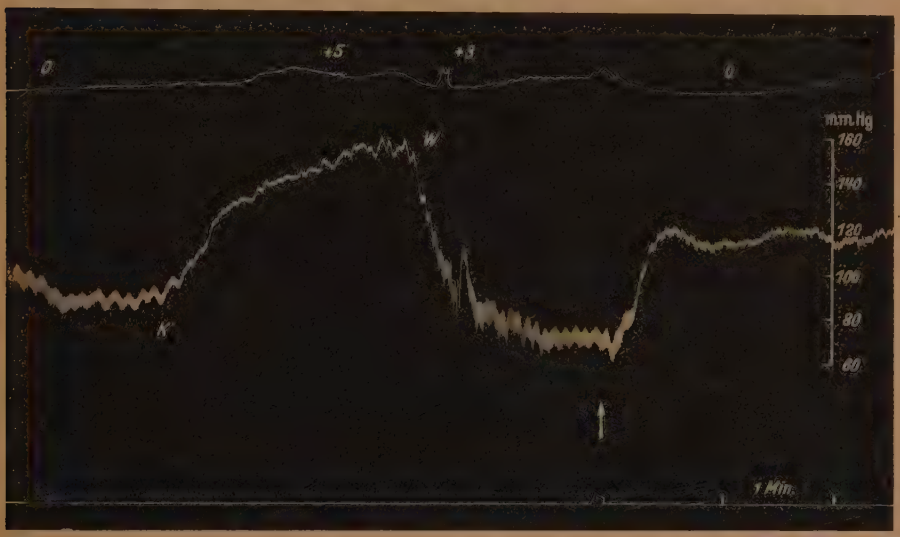


Abb. 1. Katze, 2800 g, in Chloralosenarkose. Oben Venendruck, die Ziffern bedeuten Abweichung vom Ausgangswert in mm H_2O; unten Carotisdruck. Es wurde zunächst ein B. E. durch Injektion von 9 mal 0,1 mg des Herzstoffes ausgelöst. Die Kurve zeigt im Beginn den noch fallenden Druck mit der Bradycardie. Bei *K* wurden beide Vagi durch Kälte blockiert und bei *W* durch Wärmung wieder eingeschaltet. Bei ↑ wurde 1 ccm 3%iges Ca-Gluconat „Sandoz" injiziert.

Die Reizwirkung der Mistel.

Nachdem die Kaliumhypothese hinfällig geworden war, wurde die Möglichkeit ins Auge gefaßt, daß der Herzstoff die cardialen Rezeptoren direkt errege.

Die Mistel ist ein zellzerstörendes Gift. Das ergibt sich aus dem oben beschriebenen Befund am Muskel, aus dem rasch aufschießenden Ödem des Trendelenburgschen Präparates und der starken Nekrosewirkung an der Haut. Die Injektion von 0,1 ccm eines 10%igen Extraktes aus Blätterpulver unter die Haut des Kaninchenohres, kann den Verlust des ganzes Ohres zur Folge haben und Koch[14] hat diese Wirkung, der auch die Anwendung der Mistel in Form des Plenosols zugrunde liegt, in Nekroseeinheiten geeicht.

[13] Bouckaert, J. J., u. P. Regniers: Arch. internat. Pharmacodynam. **39**, 225 (1930). — [14] Koch, E. Fr.: Z. exper. Med. **103**, 740 (1938).

Es ist klar, daß der erste Angriff eines derart starken Zellgiftes auf erregbare Gebilde Reizerscheinungen zur Folge haben kann und darauf sind wohl die sofort einsetzenden fibrillären Zuckungen des Froschmuskels zu beziehen. Auch Ba-, Zn-, Cu- und Pb-Salze [15] sowie Histamin [16] rufen derartige Zuckungen hervor. Ich habe nun geprüft, ob der Herzstoff der Mistel auch eine Reizwirkung auf motorische und sensible Nervenapparate hat.

Es wurde eine starke Injektionsnadel bei enthirnten Fröschen von der Mundhöhle aus median etwas hinter den Bulbi in die Schädelhöhle gestoßen und ein Stück in den Wirbelkanal hinabgeführt; dabei auftretende Zuckungen der Vorderbeine können als Zeichen für die richtige Lage der Nadel gelten. Dann wurden unter gelindem Druck 0,15 ccm einer $1\,^0/_{00}$igen Lösung des Herzstoffes eingespritzt und das Tier an einem Stativ befestigt. Nach kurzer Latenz traten fascikuläre Zuckungen an den Beinen auf und zuweilen steigerte sich die Erregung bis zum Tetanus.

z. B. $12^h\,35'$: 0,15 ccm $1\,^0/_{00}$ige Lösung des Herzstoffes.
$12^h\,37'$: Kneifreflex gesteigert.
$12^h\,40'$: Fascikuläre Zuckungen des ganzen Tieres.
$12^h\,45'$: Tetanus und fascikuläre Zuckungen wechseln ab.
$12^h\,50'$: Die motorischen Reizerscheinungen sind verschwunden, die Reflexe sind erloschen.
$17^h\,00'$: Die Beinmuskeln sind direkt und indirekt erregbar.

Am ganzen Frosch fehlen diese motorischen Reizerscheinungen und es kommt zu einer schlaffen Lähmung des ganzen Tieres, wie schon von Nolle [17] und Comninos [7] beschrieben wurde. Diese Lähmung ist nach großen Dosen muskulär, nach kleinen bzw. im Anfang zentral, wie sich durch folgenden Versuch zeigen ließ: Nolle hatte angegeben, daß sich die Türksche Zeit nach Eintauchen eines Reflexfrosches in verdünnte Schwefelsäure verlängert, wenn man Mistelextrakte einspritzt; ich habe die Versuche mit dem Herzstoff (1 mg) wiederholt, nachdem ich die Iliaca eines Beines unterbunden hatte. Es zeigte sich, daß die Türksche Zeit in beiden Beinen völlig parallel anstieg. Diese zentral lähmende Wirkung hatte sich schon bei der Einspritzung des Stoffes in den Wirbelkanal gezeigt.

Auch sensible Nerven werden durch die Mistel erregt. Die Injektion des Plenosols ist schmerzhaft und es wird empfohlen, zur Linderung einen Wattebausch mit Äther aufzulegen. Ich prüfte den Erfolg einer intracutanen Injektion des Herzstoffes im Selbstversuch. Wenn man 0,1 bis 0,2 ccm einer $1\,^0/_{00}$igen Lösung intracutan spritzt, dann tritt nach etwa 15 Sekunden ein heftig brennender Schmerz auf, der durchschnittlich 3—4 Minuten anhält. Dabei entsteht eine weiße Quaddel mit ausgedehntem, zackig begrenztem Hof, also eine „dreifache Reaktion" mit Axonreflex wie nach Histamin. An der Stichstelle hinterbleibt eine gewisse Unempfindlichkeit gegen Nadelstiche, doch kommt es nicht zur Nekrose. — Bringt man etwa 0,2 mg auf die Zunge, dann spürt man nach einigen

[15] Führer, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **58**, 1 (1907). — [16] Heubner, W.: Ebenda **107**, 129 (1925). — [17] Nolle, J.: Ebenda **158**, 90 (1930).

Minuten ein Brennen und Kratzen in der Mundhöhle und besonders im Rachen. Danach ist der Herzstoff der Mistel entsprechend der Einteilung von Heubner[16] als Zellgift mit gleichzeitiger Nervenreizwirkung zu klassifizieren.

Somit besteht durchaus die Möglichkeit, daß der Herzstoff zufolge seiner allgemein pharmakologischen Eigentümlichkeiten die Rezeptoren für den B. E. unmittelbar erregt, doch erfordert diese Annahme zusätzliche Erörterungen. Der Herzstoff wird sehr schlecht resorbiert. Vom Magen-Darm-Kanal aus ist er völlig unwirksam[18] und auch bei der Injektion beim Frosch fiel Comninos[7] die schlechte Resorbierbarkeit auf. Dies dürfte damit zusammenhängen, daß Stoffe dieses Charakters mit der Zellsubstanz zu reagieren pflegen und nur langsam in die Tiefe dringen. Es muß also angenommen werden, daß die Rezeptoren im Herzen sehr exponiert liegen und das tun die von Pannier[19] als Rezeptoren für den B. E. angesprochenen Nervenendigungen in der Tat, wenn man die reiche Kapillarisierung des Myocards bedenkt. Eine derartige Lage an den Austauschflächen des Stoffwechsels ist auch zu fordern, wenn man dem B. E. die Aufgabe zuweist, als propriozeptiver Mechanismus auf Störungen im Muskelstoffwechsel anzusprechen.

Gut vereinbar mit den Eigentümlichkeiten des Herzstoffes ist ferner die Tatsache, daß der Mistel-B. E. im Gegensatz zum flüchtigen Veratrin-B. E. lange anhält (45—60 Minuten, gelegentlich stundenlang) und dann praktisch nicht wieder ausgelöst werden kann; in vielen hunderten von Versuchen im hiesigen Institut war dies nur zwei- bis dreimal der Fall und es trat sonst bei weiterer Mistelzufuhr nur der typische Herztod ein. Der flüchtige Veratrin-B. E. ist dagegen, sofern man kleine Dosen anwendet, praktisch beliebig oft auslösbar und zeigt höchstens eine gewisse Abschwächung, die durch Vergrößerung der Dosen kompensiert werden kann. Dieses Verhalten der Mistelwirkung erinnert ganz an die „Anaesthesia dolorosa", die durch zahlreiche Ätz- und Reizstoffe hervorgerufen wird und auf Erregung mit nachfolgender Schädigung der sensiblen Elemente bezogen wird.

Wie läßt sich nun die Aufhebung des Mistel-B. E. durch Calcium erklären? Dies ist zwanglos durch seine erregbarkeitsmindernde und vielfach entgiftende Wirkung möglich, die in ihrem Wesen zwar noch nicht völlig geklärt ist, in herkömmlicher Weise aber mit seiner „abdichtenden" und damit der Auflockerung der Membranen bei der Erregung begegnenden Wirkung erklärt werden kann. So hat Rhode[20] gezeigt, daß das Ca eine lokalanaesthetische Wirkung hat; ferner behebt

---

[18] Jarisch, A., u. H. Richter: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 89 (1940). — [19] Pannier, R.: Arch. internat. Pharmacodynam. **64**, 476 (1940). — [20] Rhode, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **91**, 173 (1921).

das Ca die Reizerscheinungen bei der Guanidin-[21] und Aconitinvergiftung[22], schwächt die Krämpfe nach Strychnin, Coffein[23] und Lokalanaestheticis[24] ab und wirkt antagonistisch gegen Hg[25], Pb[26], Cu und Zn[27].

Ich habe geprüft, ob sich auch die anderen Reizwirkungen des Mistelstoffes durch Ca beheben lassen und das ist in der Tat der Fall. Wenn man am Trendelenburgschen Froschpräparat 0,5 ccm einer 1‰igen Lösung des Herzstoffes injiziert und nachdem die fibrillären Zuckungen aufgetreten sind eine Iliaca unterbindet und nun Ringer mit dem zehnfachen Ca-Gehalt nachspritzt, dann hören die Zuckungen im durchströmten Bein schlagartig auf. Ferner ist der Schmerz bei der intracutanen Injektion erheblich abgeschwächt, wenn man den Herzstoff in isotonischer $CaCl_2$-Lösung injiziert.

Auch die lähmende Wirkung am ganzen Frosch wird durch Ca erheblich verzögert, wie das folgende Beispiel zeigt; der Herzstoff und das Ca wurden in 1 ccm gelöst getrennt in jeden Oberschenkellymphsack injiziert.

	I	II	III
$15^h 30'$	1 mg Herzstoff	1 mg Herzstoff 0,1 g $CaCl_2$	1 mg Herzstoff 0,1 g Ca-Gluconat „Sandoz“
$16^h 15'$	Rückenlage, Reflexe erloschen	—	—
$16^h 30'$	Atmung steht	—	—
$16^h 45'$	Herzstillstand	—	—
$17^h 00'$	—	—	—
$17^h 15'$	—	—	—
$17^h 30'$	—	—	Rückenlage, Reflexe erloschen
$17^h 45'$	—	—	Atmung steht
$18^h 00'$	—	Rückenlage, Reflexe erloschen	Herzstillstand
$18^h 30'$	—	Herzstillstand	—

Die Gegenwirkung des Calciums gegen den Mistel-B.-E. hat eine Besonderheit. Wie bereits erwähnt, läßt sich der Effekt am gleichen Tier nur ausnahmsweise ein zweites Mal auslösen; wenn die Wirkung abgeklungen ist, erweist sich der Apparat als refraktär. Wenn man hingegen den Mistel-B. E. mit Ca unterbrochen hat, dann läßt er sich sofort wieder auslösen, Es muß also das Ca den Prozeß an den sensiblen Nerven im Herzen irgendwie rückgängig gemacht oder zum mindesten zum Stillstand gebracht haben, so daß er durch eine neuerliche Injektion wiederum in Gang gesetzt werden konnte.

[21] Führer, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **58**, 1 (1907); Yagi, S.: Arch. internat. Pharmacodynam. **22**, 259 (1912). — [22] Mladoveanu, C., O. Vasilco u. P. Gheorghiu: Ebenda **63**, 494 (1939). — [23] Yagi, S.: Ebenda **22**, 259 (1912). — [24] Wastl, H.: Ebenda **63**, 145 (1939); **64**, 381 (1940). — [25] Salant, W., u. H. Nagler: J. Pharmacol. (Am.) **41**, 407 (1931). — [26] Bauer, S.: Dissert. Köln 1937. — [27] Jones, J. R. E.: J. exper. Biol. **15**, 394 (1938).

Besprechung der Ergebnisse.

Es zeigt sich somit, daß der Herzstoff der Mistel pharmakologisch als Reizstoff zu charakterisieren ist; damit tritt er in eine Reihe mit anderen, den Bezoldeffekt auslösenden Stoffen, nämlich Veratrin[2], Aconitin[28], Histamin[29] sowie K- und Ba-Ionen[4]; er hat mit diesen die Wirkung auf sensible sowie motorische Elemente gemeinsam und mit einigen auch die Fähigkeit, nervöse Apparate nach anfänglicher Reizung unerregbar zu machen sowie als typisches Herzgift Rhythmusstörungen zu erzeugen. Während aber beim Veratrin und Aconitin eine Mitwirkung von Kalium-Ionen als eigentlicher Erregungsstoff anzunehmen ist[4], muß beim Herzstoff der Mistel eine unmittelbare Erregung der sensiblen Apparate im Herzen vorliegen. Da es sich um einen ausgesprochen gewebsschädigenden Reizstoff handelt, läßt sich verstehen, daß die Mistel im Herzen einen Reiz nocizeptiver Art setzt und dadurch den Bezoldeffekt, der ja als propriozeptiver Schutzreflex des Herzens zu bewerten ist, in der Dauerform auslöst.

Zusammenfassung.

Bei der Auslösung des Bezoldeffektes durch den Herzstoff der Mistel spielt das Kalium im Gegensatz zum Veratrin keine Rolle als Übertragungsstoff der Erregung.

Es muß angenommen werden, daß der Herzstoff die sensiblen Rezeptoren im Herzen unmittelbar erregt. Auf Grund seiner Eigenschaften als zellschädigendes Reizgift erscheint er hierzu durchaus befähigt.

Der Herzstoff der Mistel besitzt Reizwirkungen auf motorische und sensible Elemente verschiedener Art; diese Wirkung kann durch Calcium aufgehoben werden.

Calcium unterbricht auch den durch Mistel ausgelösten Bezoldeffekt.

---

[28] Geilenkirchen, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **198**, 152 (1941). — [29] Amann, A., A. Jarisch u. H. Richter: Ebenda **198**, 158 (1941).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Innsbruck.
(Direktor: Professor Dr. A. Jarisch.)

Pharmakologische Untersuchungen über die Eichenmistel und die amerikanische Mistel*.

Von

Helene Thun.

(Eingegangen am 18. August 1943.)

Die Pharmakologie der nordischen Mistel (Viscum album) ist weitgehend geklärt. Sie enthält einen herzwirksamen Stoff, der den Bezoldeffekt auslöst und bei größeren Mengen nach Rhythmusstörungen durch tonischen Herzstillstand tötet. Er wurde chemisch von Winterfeld[1] weitgehend gereinigt, konnte aber noch nicht identifiziert werden; pharmakologisch ist er als gewebsschädigendes Reizgift zu kennzeichnen (Job[2]). — Ferner wird das Vorkommen von Cholinestern diskutiert; bei pharmakologischen Untersuchungen von Mistelauszügen wurden mehrfach Wirkungen dieses Charakters beobachtet (Kochmann[3], Janssen und Mitarbeiter[4]), und Winterfeld[5] konnte aus Eisessigauszügen Acetylcholin isolieren, doch vertritt Jarisch[6] die Auffassung, daß es sich dabei um Kunstprodukte handle, die durch spontane oder künstliche Säuerung der Extrakte entstehen. Bei dieser Sachlage war es naheliegend nachzusehen, wie sich die beiden anderen, medizinisch interessierenden Loranthazeen verhalten; über die amerikanische Mistel liegt bereits eine ausführliche Untersuchung von Hanzlik und French[7] vor.

Die Eichenmistel.

Loranthus europaeus (Jacquin), die europäische Riemenblume, ist von besonderem Interesse, weil in den alten Kräuterbüchern und schon von Plinius betont wird, die Mistel müsse von der Eiche genommen werden. Nun schmarotzt aber Viscum nur äußerst selten auf der Eiche, so daß Marzell[8] die Vermutung aussprach, es sei in den alten Schriften Loranthus gemeint; in manchen Pharma-

* D 304.

[1] Winterfeld, K.: Sci. pharm. (Wien. pharm. Wschr.) 1938, S. 105; Dörle, E. E.: Über zwei therapeutisch wirksame Inhaltsstoffe der Mistel. Dissert. Freiburg 1938; Winterfeld, K., u. E. Dörle: Arch. Pharmaz. usw. **280**, 23 (1942). [2] Job, C.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **202**, 633 (1943). — [3] Kochmann, M.: Ebenda **161**, 553 (1931). — [4] Enders, A., O. Feuchtinger u. S. Janssen: Ebenda **196**, 290 (1940); Feuchtinger, O.: Ebenda **196**, 431 (1940). — [5] Winterfeld, K.: Pharmazeut. Ind. **9**, 37 (1942); Winterfeld, K., u. A. Kronenthaler: Arch. Pharmaz. usw. **280**, 23 (1942). — [6] Jarisch, A.: Ebenda **280**, 241 (1942). — [7] Hanzlik, P. J., u. W. O. French: J. Pharmacol. (Am.) **23**, 283 (1924). — [8] Marzell, H.: Dtsch. med. Wschr. 1937, S. 835.

copöen — die Mistel war bis zur Mitte des vorigen Jahrhunderts offizinell — wird ausdrücklich Loranthus genannt (Mayerhofer[9]). Es ist aber auch die Eichenmistel nicht gerade häufig. Sie kommt nach Hegi[10] in Deutschland nur bei Pirna in Sachsen, ferner im Wiener Becken, in Böhmen, Mähren, Steiermark, Krain und Küstenland vor und fehlt im Bayrischen Wald, in Tirol, Salzburg, Kärnten und in der Schweiz. Daher ist der Verdacht gerechtfertigt, daß die Droge, die hauptsächlich gegen Fallsucht und Krämpfe, aber auch als konzeptionsförderndes Mittel sowie gegen Asthma, Blutspucken und Eingeweidewürmer empfohlen wurde, von Viscum stammte. Hegi sagt ausdrücklich, daß das Viscum quercinum des Großhandels Viscum album war. Der Hauptunterschied besteht darin, daß Loranthus im Winter seine Blätter verliert, daß die Zweige holzig braun sind und daß die Beeren in lockeren Trauben stehen.

Die pharmakologische Untersuchung der Eichenmistel, die uns in dankenswerter Weise von der Fürstlich Liechtensteinschen Gartenbaudirektion in Eisgrub, Niederdonau, zur Verfügung gestellt wurde, war vollständig negativ. Geprüft wurden wässerige Auszüge des Blätterpulvers, sowie Aufarbeitungen nach dem von Winterfeld[1] angegebenen Verfahren zur Gewinnung des Herzstoffes von Viscum album (jedoch unter Weglassung der Cholesterinfällung, die sich als nicht wesentlich erwies), und zwar am ganzen Frosch, am isolierten Froschherzen, an Katze, Kaninchen und Ratte. Nie traten die für Viscum charakteristischen Veränderungen der Herztätigkeit auf und es fehlten auch die örtlichen Reizerscheinungen und Nekrosen nach der subcutanen Injektion; ebenso wurde eine Wirkung auf den Froschmuskel vermißt. Im Blutdruckversuch waren keine Anzeichen einer cholinesterartigen Wirkung zu beobachten; p_H der frischen, wässerigen Extrakte betrug 6,14.

Amerikanische Mistel.

Die amerikanische Mistel, Phloradendron flavescens, ist eine unseren Mistelarten ähnliche Loranthacee; verwendet werden die getrockneten Stengel und Blätter (Möller[11]), und zwar als wehentreibendes Mittel; Park, Davis & Co. brachten einen alkoholischen Extrakt in den Handel. Im Experimente wurde bei intravenöser Injektion eine initiale, atropinhemmbare Drucksenkung festgestellt, der eine anhaltende Drucksteigerung mit Pulsbeschleunigung folgt; der Uterus, isolierte Gefäße und andere glattmuskelige Organe werden stark erregt (Crawford[12], Hanzlik und French[7]). Die chemische Aufarbeitung weist auf das Vorliegen von Cholinestern sowie eines tyraminartigen Stoffes hin (Crawford und Watanabe[13], Desantis und Lynn[14]).

Die sehr sorgfältigen pharmakologischen Untersuchungen von Hanzlik und French ergaben keine Anhaltspunkte für das Vorkommen eines herzwirksamen Stoffes. Trotzdem wurde mit einer Droge, die uns freundlicherweise Herr Professor Hanzlik zur Verfügung gestellt hatte, nach

---

[9] Mayerhofer, B.: Hippokrates (D.) 1938, S. 537. — [10] Hegi, G.: Illustrierte Flora von Mitteleuropa, Bd. 3, S. 145. — [11] Möller, J.: Pharmaz. Z.halle Dtschld. 24, 153 (1883). — [12] Crawford, A. C.: J. amer. med. Assoc. 1911, S. 865. — [13] Crawford, A. C., u. W. K. Watanabe: J. biol. Chem. (Am.) 19, 303 (1914). — [14] Desantis, F. J., u. E. V. Lynn: J. amer. pharmaceut. Assoc. 1937, S. 219.

den von Viscum her bekannten Zeichen der Herzwirkung gesucht, und zwar unter Verwendung einfacher wässeriger Auszüge, sowie nach Aufarbeitung der Droge nach dem bei Viscum erprobten Verfahren zur Gewinnung des Herzstoffes; das Ergebnis war vollständig negativ. Auch die nekroseerzeugende Wirkung ist nicht vorhanden und es fehlt die Wirkung auf den Froschmuskel.

Bei der Prüfung am Blutdruck von Katzen und Kaninchen fanden wir die von Hanzlik und French beschriebenen Wirkungen wieder. Es kam zu einer initialen, flüchtigen und atropinhemmbaren Blutdrucksenkung, die nach Alkalibehandlung des Auszuges verschwand und somit cholinesterartigen Charakter hatte; daran schloß sich eine Drucksteigerung mit Pulsbeschleunigung von längerer Dauer. p_H des frisch bereiteten wässerigen Auszuges war 4,5.

Besprechung der Ergebnisse.

Daß der Eichenmistel und der amerikanischen Mistel die Herzwirkung von Viscum vollständig fehlt, ist auffallend, da es sich doch um biologisch so ungewöhnliche Pflanzen handelt und auch der Herzstoff von Viscum eine ganz eigenartige Substanz ist. Der Herzstoff ist also für Viscum album spezifisch, und zwar auch für die ernährungsphysiologisch bedingten Rassen, denn er findet sich nach den Feststellungen am hiesigen Institut in der Laubholz-, der Tannen- und der Föhrenmistel in gleicher Weise. Auch das Fehlen der nekrotisierenden Wirkung ist bemerkenswert. Nach Koch [15] bestehen zwischen der herztoxischen und der nekroseerzeugenden Wirkung von Viscum keine festen Beziehungen und Koch macht für die nekrotisierende Wirkung besondere Phytotoxine verantwortlich; da aber der Herzstoff auch ein gewebsschädigendes Zellgift ist[2], dürften doch innere Beziehungen bestehen und das gleichzeitige Fehlen beider Wirkungen bei den beiden anderen Loranthaceen unterstreicht diese Auffassung.

Die cholinesterartige Wirkung, die bei Viscum von einzelnen Autoren behauptet, von Jarisch aber bestritten wird, fehlte bei der Eichenmistel, war hingegen bei der amerikanischen Mistel in Übereinstimmung mit den Angaben von Hanzlik und French nachweisbar. Da die p_H der frischen Auszüge des Drogenpulvers bei der amerikanischen Mistel 4,5, bei der Eichenmistel 6,15 und bei Viscum 5,83 betrug, erscheint die Annahme von Jarisch gerechtfertigt, daß die mehrfach beschriebene cholinesterartige Wirkung von Viscumzubereitungen erst sekundär infolge von Säuerung durch die Veresterung von Cholin entsteht.

Die Untersuchungen im Innsbrucker [16] und Freiburger [17] pharmakologischen Institut hatten keinerlei Anhaltspunkte für die therapeutische

---

[15] Koch, E. Fr.: Z. exper. Med, **103**, 740 (1938). — [16] Jarisch, A.: Klin. Wschr. 1939, S. 145; Süd-dtsch. Apotheker-Z. 1943, S. 77. — [17] Enders, A., O. Feuchtinger u. S. Janssen: Klin. Wschr. 1941, S. 311.

Verwendbarkeit von Viscum album ergeben. Nun zeigt sich, daß auch Loranthus europaeus, die Eichenmistel, die wirklich „von der Eiche" stammt und möglicherweise den Ruf der Mistel als Heil- und Zaubermittel begründete, pharmakologisch gänzlich unwirksam ist. Bei der amerikanischen Mistel, die als wehentreibendes Mittel empfohlen wird, scheint die Volksmedizin glücklicher gewesen zu sein, denn in dieser fanden Hanzlik und French ein stark uteruswirksames Prinzip, das auf einen tyraminartigen Stoff zurückzugehen scheint.

Zusammenfassung.

Die Eichenmistel, Loranthus europaeus, ist pharmakologisch vollständig unwirksam.

Die amerikanische Mistel, Phloradendron flavescens, enthält ein cholinesterartiges und ein sympathomimetisches Prinzip.

Das Fehlen des für die nordische Mistel, Viscum album, charakteristischen Herzstoffes bei den beiden anderen Mistelarten ist auffallend.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Göttingen.

Die Einengungs- und Verdünnungsarbeit der Niere.

Von

Professor Dr. med. **Ernst Frey,**

Direktor des Instituts.

(Eingegangen am 23. September 1943.)

Seit Dreser (1) die Aufmerksamkeit auf die Größe der osmotischen Arbeit der Niere lenkte, sind mehrfach Berechnungen der Nierenleistung ausgeführt worden (2), teils theoretischer Art, teils Teilfunktionen betreffend.

Es soll im folgenden der Versuch gemacht werden, die Arbeit der Niere zunächst ohne irgendwelche Annahme eines physiologischen Geschehens zu berechnen und die erhaltenen Werte mit denen zu vergleichen, die man ausgehend von verschiedenen physiologischen Vorstellungen erhält. Dabei wird die Zusammensetzung des Harnes und des Blutes nach den Zahlen von Cushny (2) angenommen, um irgendein vielgebrauchtes Beispiel den grundsätzlichen Feststellungen zugrunde zu legen. Für die Berechnung der Einengungsarbeit wird angenommen, daß am Tage 1,5 Liter Harn abgesondert werden, und daß dieser Harn aus 1500 Litern Blut entsteht, welche täglich die Niere durchströmen [Rein (3)].

Zur Berechnung muß man eine bestimmte Menge der Ausgangslösung ansetzen; dies kann nicht die Blutmenge sein, da sie die täglich im Harn erscheinenden Mengen der Stoffe nicht enthält. Auch wenn man das ganze verfügbare Wasser des Körpers, also etwa 30 Liter (die Hälfte des Körpergewichtes plus Blutwasser) (4) ansetzt, so reicht auch diese Menge nicht aus. Die tägliche Menge Harnstoff im Harn ist erst in 100 Litern Blut, die von SO_4 in 141 Litern, von Kreatinin in 99 Litern, von NH_4 in 55 Litern Blut enthalten. Daher muß man die Ausgangslösung größer annehmen, nämlich der Menge Blut gleichsetzen, die nachgewiesenermaßen die Niere in der Zeit der Harnbereitung durchströmt, und welche sich immer wieder ergänzt. Wir werden sehen, daß diese Festsetzung nur für die Berechnung der Gesamtarbeit der Niere eine Rolle spielt, nicht aber für das eigentliche Problem, den Vergleich der Zahlen bei verschiedenen Theorien der Harnabsonderung.

Stoff	Mol/Liter Blut	Mol/Liter Harn	Mol in 1,5 Liter Harn
Na	0,1304	0,1522	0,2283
Cl	0,1099	0,1690	0,2535
U^+	0,0050	0,3333	0,5000
U^-	0,00024	0,0030	0,0045
K	0,0050	0,0385	0,0577
PO_4	0,0010	0,0158	0,0237
SO_4	0,0002	0,0188	0,0282
Kreat.	0,0001	0,0066	0,0099
NH_4	0,0006	0,0222	0,0333
Ca	0,0020	0,0038	0,0057
Mg	0,0010	0,0025	0,0047
	0,25544	0,7657	1,1495

Nach den Angaben von Cushny enthält das

Blut im Liter 0,25544 Molen, der Harn 0,7657 Molen. Es hat also im ganzen eine Einengung auf das Dreifache stattgefunden. Die Einzelbestandteile sind in der vorhergehenden Tabelle in Molen ausgedrückt.

A. Einengung.

1. Berechnung der Nierenarbeit ohne jede physiologische Voraussetzung.

Bei der Harnbereitung gehen eine Anzahl von Vorgängen vor sich: Die Konzentration der Einzelbestandteile wird geändert, und zwar erscheinen die Stoffe im Harn in höherer Konzentration als im Blute; dazu bedarf es eines Arbeitsaufwandes für jeden einzelnen Stoff entgegen der Tendenz der Diffusion. Und zwar ist die Arbeit der Konzentrierung (5) gleich der Anzahl der in Betracht kommenden Molen mal RT mal log nat c/c. Ist die Endkonzentration höher als die der Ausgangslösung, so wird Arbeit verbraucht; ist sie geringer, so wird Arbeit gewonnen. Dabei ist $R = 0{,}082$, T die absolute Temperatur bei 37° (also 310). Wendet man die dekadischen Logarithmen an, so muß man, um auf den natürlichen Logarithmus zu kommen, dieses Produkt noch mit 2,3 multiplizieren. Dann erhält man die Arbeit in Liter-Atmosphären. Die Wanderung eines Stoffes bedarf also einer Arbeit von $58{,}5 \cdot \text{Mol} \cdot \lg c/c$. Ein zweiter Vorgang ist die Veränderung des Blutes; es hat sich die Konzentration des Blutes um die ausgeschiedene Menge eines Stoffes verringert, die Blutkonzentration beträgt also nicht mehr die oben angegebene, sondern es fehlen in der die Niere am Tage passierenden Blutmenge die ausgeschiedenen Molen, die Konzentration beträgt also nur noch Molen (Blut) in 1500 Litern minus ausgeschiedenen Molen in 1498,5 Litern, wenn 1,5 Liter Harn entleert wird. Dadurch ist eine Verdünnungsarbeit durch freiwillige Diffusion gewonnen worden, die von der aufgewendeten Arbeit abgeht. Drittens ist außer der Bewegung der einzelnen Stoffe eine Wasserwanderung eingetreten, entsprechend der Gesamtkonzentration des Harnes, die sich aus der Gesamtmolenzahl berechnen läßt. In unserem Beispiel kommt also eine Konzentrierung von 1,1495 Molen auf das Dreifache hinzu. Alle diese Betrachtungen sind von der Vorstellung des physiologischen Geschehens, Filtration, Rückresorption oder Sekretion unabhängig und leiten sich lediglich aus dem Endresultat der Nierentätigkeit ab, wie es eben vorliegt.

Es wird also für die Stoffwanderung in den Harn hinein entgegen der Diffusion eine Arbeit von 69,413 Liter-Atmosphären erfordert, durch die Blutverdünnung 24,062 Liter-Atmosphären gewonnen, es bleibt also ein Verbrauch von 45,351 Liter-Atmosphären. Für die Wasserwanderung durch Einengung des Harnes kommt eine Arbeit von 32,084 als aufgewandt hinzu, minus der durch Blutverdünnung (im ganzen) gewonnenen Arbeit (= 19,053 Liter-Atmosphären), also ein Verbrauch von 13,031 Liter-Atmosphären. Die Arbeit der Niere beträgt also am Tage bei Herstellung eines derartigen konzentrierten Harnes von 1,5 Litern 58,382 Liter-Atmosphären.

Stoff	Liter-Atm. verbraucht durch Konzentrierung	Gewonnen durch Blutverdünnung	Gesamtverbrauch in Liter-Atm.
Na.....	0,896	0,000	0,896
Cl	2,773	3,855	— 1,082
U^+	53,235	11,759	41,476
U^-	0,290	0,115	0,175
K	2,991	1,147	1,844
PO_4	1,664	1,913	— 0,249
SO_4	3,250	0,761	2,489
Kreat.	1,054	0,402	0,652
NH_4.....	3,058	1,173	1,885
Ca	0,093	1,539	— 1,446
Mg	0,109	1,398	— 1,290
	69,413	24,062	45,351
Dazu: Wasserwanderung durch Harneinengung			32,084
Blutverdünnung			—19,053
Gesamtarbeitsverbrauch in Liter-Atmosphären			58,382

Das sind 1,4123 Cal oder 609,09 kgm. Der Sauerstoffverbrauch der Niere ist ein außerordentlich großer, aber die daraus berechnete Wärmemenge wird zum allergrößten Teil als Wärme abgeführt, und es bleibt nur ein kleiner Teil für die Nierenarbeit übrig. Nach Rein (3) liefert die Niere in 24 Stunden 60—180 Cal und führt davon mit den 1500 Litern Blut, die die Nieren in 24 Stunden durchströmen, 75—150 Cal wieder ab, da das Nierenvenenblut 0,05—0,1° wärmer ist als das Arterienblut. Man kann bei so weit auseinanderliegenden Zahlen keine Durchschnittswerte ansetzen. Jedenfalls bleiben nur geringe Kalorienmengen für die Harnbereitung übrig, aber es werden ja nur 1,4 Cal erfordert.

2. Berechnung der Nierenarbeit unter verschiedenen physiologischen Annahmen über Filtration, Rückresorption und Sekretion.

Die Bereitung des Harnes geschieht durch Filtration im Glomerulus und durch Veränderungen dieses provisorischen Harnes im Tubulus. Während die Mehrzahl der Autoren mit Cushny annimmt, daß die Anreicherung der einzelnen Stoffe nur durch Rückresorption von Wasser und der meisten Bestandteile des Harnes bis auf den einen in höchster Anreicherung vorhandenen stattfindet (es werden immer neue Stoffe als den nichtrückresorbierbaren und als Maß für die Filtration dienenden Stoff angegeben, nachdem das Kreatinin entsetzt wurde), neige ich zu der Ansicht, daß die Rückresorption nicht maximal, sondern minimal ist (6), nur so groß, wie gerade für die Wasserwanderung erforderlich ist, daß provisorischer Harn und definitiver im Verhältnis der Gefrierpunkte von Harn und Blut stehen. Dabei muß ich natürlich neben der Rückresorption einiger Bestandteile, wie Kochsalz, eine zusätzliche Sekretion anderer Stoffe, wie Harnstoff, Kreatinin usw., im Tubulus annehmen, also einen Molekularaustausch.

Man kann nun die Nierenarbeit nach beiden verschiedenen Ansichten ausrechnen.

a) Minimale Rückresorption.

Wenn die Anreicherung der Stoffe im Harn teils durch Wasserverlust im Tubulus vor sich geht, teils durch Sekretion erfolgt, so ordnen sich die Bestandteile des Harnes in zwei Gruppen, solche, deren Anreicherung nur durch Wasserverlust erfolgt oder die sogar zum Teil rückresorbiert werden, und solche, die eine zusätzliche Sekretion erfordern. Ist also der Harn wie in unserem Beispiel auf das Dreifache durch Wasserrückresorption eingeengt worden, so ist dreimal so viel Glomerulusfiltrat geflossen als definitiver Harn, also 4,5 Liter. Diese haben eine gewisse Molenzahl von Kochsalz usw. mitgebracht; es liegt aber die Kochsalzkonzentration des Harnes unter dem Dreifachen des Blutes, ein Teil Kochsalz ist also rückresorbiert worden. Die zweite Gruppe erscheint im Harn in höherer Konzentration, als dem Dreifachen des Blutes entspricht, wie z. B. Harnstoff, diese Stoffe müssen dazusezerniert worden sein. Man kann nun diese Vorgänge zerlegen in eine Anreicherung auf das Dreifache und dann weiter in eine Rückresorption eines Teiles der Stoffe der ersten Gruppe oder ein Dazufügen von Stoffen der zweiten Gruppe. Die dabei aufzuwendende Arbeit ist wieder $58{,}5 \cdot \text{Molenzahl} \cdot RT \cdot \lg c/c$, bei der Einengung durch Wasserverlust. Bei der Annahme einer dreifachen Einengung des provisorischen Harnes wird also das Verhältnis der Konzentrationen zunächst zu 3; es tritt also eine Konzentrierung mit der Arbeit $58{,}5 \text{ Molenzahl} \cdot RT \cdot \lg 3$ ein. Bei der Rückresorption wird Arbeit gewonnen, indem der rückresorbierte Teil der eingeengten Molen wieder auf Blutkonzentration verdünnt wird. Es geht also von der Arbeit 58,5 (filtrierten Molen) $RT \cdot \lg 3$ die Arbeit 58,5 (rückresorbierte Mole) $RT \cdot \lg 3$ ab. Die rückresorbierten Molen stellen die Differenz der filtrierten und definitiven Molen dar, also zerfällt der zweite Ausdruck in: 58,5 (filtrierte Mole) $RT \cdot \lg 3$ $-58{,}5$ (def. Mole) $RT \cdot \lg 3$. Da der zweite Ausdruck abgezogen wird, so heben sich die beiden ersten Glieder auf und der zweite Teil des zweiten Ausdruckes wird positiv. Es wird also zunächst die Arbeit 58,5 (def. Mol.) $RT \cdot \lg 3$ verbraucht. Nun wird aber durch Rückresorption der Rest der filtrierten Molen (= def. Mol.) im Harn verdünnt, es wird also eine Verdünnungsarbeit gewonnen, indem die definitiven Harnmolen im Verhältnis der filtrierten Molen zu definitiven Molen verdünnt werden. Dieser Ausdruck wird vom ersten abgezogen. Man erhält also für die Berechnung der Arbeit bei der ersten Gruppe von Stoffen, die zum Teil rückresorbiert werden, die Gleichung: $58{,}5 \cdot RT \cdot (\text{def. Mol.}) [\lg 3 - \lg (\text{filtr. Mol./def. Mol.})]$. Dazu kommt bei allen Berechnungen noch die gewonnene Arbeit durch die Blutverdünnung und die geleistete Arbeit der Wasserbewegung. Aber diese letzten Größen sind durch das Endresultat ohne Rücksicht auf eine Theorie immer die gleichen, sind also

nur im Endresultat dazuzufügen. — Die Arbeit bei der Anreicherung der zweiten Gruppe von Stoffen, die dazusezerniert werden, ist wieder die Konzentrationsarbeit auf das Dreifache, also 58,5 (filtr. Mol.) $RT \cdot \lg 3$. Dazu kommt die Arbeit bei der Sekretion: 58,5 (sez. Mol.) $RT \cdot \lg$ (Konz. Harn/Konz. Blut). Außerdem ist die Konzentration der filtrierten Molen durch das Dazusezernieren gestiegen, also die Arbeit 58,5 (filtr. Mol.) $RT \lg$ (def. Mol./filtr. Mol.) geleistet worden. Die Arbeit bei diesen Stoffen beträgt also: 58,5 (filtr. Mol.) [lg 3 + lg (def. Mol./filtr. Mol.)] + sez. Mol. lg (Konz. Harn/Konz. Blut). Nach diesen beiden Gleichungen läßt sich die Arbeit der Konzentrierung der Einzelstoffe berechnen, unter der Voraussetzung einer dreifachen Einengung des provisorischen Harnes oder der minimalen Rückresorption (Werte siehe unten).

b) Maximale Rückresorption.

Bei der Annahme einer maximalen Rückresorption, bei der die Anreicherung aller Stoffe nur durch Wasserrückresorption erfolgen soll, gilt die erste Gleichung für die teilweise rückresorbierten Stoffe. Sie sollen ja auch alle teilweise rückresorbiert werden, bis auf den am meisten angereicherten Stoff. Die filtrierten Mengen sind natürlich sehr viel größer als oben, statt lg 3 steht lg 100. Ich habe also eine 100fache Filtration gegenüber der definitiven Harnmenge angenommen, also 150 Liter Glomerulusfiltrat bei 1,5 Liter Harn.

Stoff	Ohne jede Voraussetzung	Annahme des 3fachen Glomerulusfiltrates = minimale Rückresorption	Annahme des 100fachen Glomerulusfiltrates = maximale Rückresorption
Na	0,893	0,893	0,897
Cl	2,773	2,771	2,773
U^+.....	53,235	53,235	53,346
U^-.....	0,290	0,289	0,289
K	2,991	2,991	2,991
PO_4	1,664	1,663	1,661
SO_4	3,250	3,250	3,253
Kreat. ...	1,054	1,054	1,053
NH_4	3,058	3,058	3,055
Ca	0,093	0,093	0,093
Mg	0,109	0,135	0,135
	69,413	69,432	69,547

(Dazu kommen noch die Werte für die Wasserwanderung und die Blutverdünnung, welche in allen Fällen die gleichen sind, weil sie unabhängig von jeder Theorie aus dem Endresultat der Harnbereitung folgen; sie sind oben angegeben.)

Es ergeben sich nun die vorstehenden Zahlen für die Konzentrationsarbeit der einzelnen Stoffe.

Diese Zahlen sind also identisch. Es ist gleichgültig, auf welchem Wege man sich die Harnbereitung vorstellt, die Berechnung der Nierenarbeit ergibt die gleichen Werte untereinander und auch die gleichen wie die ohne jede Voraussetzung aus den physikalischen Daten des Harnes und Blutes folgenden.

B. Verdünnung.

1. Berechnung der Nierenarbeit ohne jede physiologische Voraussetzung.

Zur Berechnung der Nierenarbeit bei der Herstellung eines verdünnten Harnes legen wir die gleichen Molenzahlen, die am Tage ausgeschieden werden, zugrunde, nur nehmen wir eine Verdünnung des Harnes aufs Doppelte an, also 9 Liter Harn. Die Blutkonzentrationen der einzelnen Stoffe sind die gleichen wie in obigen Beispielen, ebenso die absoluten Mengen der Stoffe im Tagesharn. Es dienen als Unterlage die Zahlen der nebenstehenden Tabelle.

Stoff	Molen pro Liter Blut	Molen pro Liter Harn	Molen in 9 Litern Harn
Na	0,1304	0,0254	0,2283
Cl	0,1099	0,0291	0,2535
U^+.....	0,0050	0,0555	0,5000
U^-.....	0,00024	0,0005	0,0045
K	0,0050	0,0064	0,0577
PO_4	0,0010	0,0026	0,0237
SO_4	0,0002	0,0031	0,0282
Kreat. ...	0,0001	0,0011	0,0099
NH_4	0,0006	0,0037	0,0333
Ca.	0,0020	0,0006	0,0057
Mg	0,0010	0,0005	0,0047
	0,25544	0,1285	1,1495

Die Stoffe sind im Harn teils in höherer, teils in geringerer Konzentration als im Blute. Im ersteren Falle wird Arbeit verbraucht, im zweiten Arbeit gewonnen. Außerdem kommt wieder die Wasserwanderung in Frage, durch welche bei der Verdünnung aufs Doppelte, von 0,25544 Molen pro Liter auf 0,1285 Molen/Liter 20,241 Liter-Atmosphären gewonnen werden. Aber durch die Konzentrierung des Blutes wegen Absonderung eines verdünnten Harnes sind 30,421 Liter-Atmosphären erforderlich; denn die im Blute nach Absonderung des Harnes verbleibenden 382,0105 Molen ergeben, auf 1491 Liter Blut verteilt, eine Konzentration von 0,256 21 Molen im Liter (gegenüber 0,25544 vorher). Es werden also zur Wasserwanderung und Blutveränderung zusammen 10,179 Liter-Atmosphären (30,420—20,241) verbraucht. Diese kommen zu dem Verbrauch der Einzelkonzen-

Stoff	Arbeit verbraucht zur Harnbereitung	Arbeit verbraucht zur Blutveränderung	Zusammen
Na	— 9,291	22,757	13,4660
Cl	— 8,559	19,013	10,4540
U^+.....	30,000	— 0,202	30,3980
U^-.....	0,0837	— 0,0013	0,0824
K	0,362	— 0,0065	0,3555
PO_4	0,576	— 0,0065	0,5695
SO_4	1,966	— 0,0123	1,9557
Kreat. ...	0,603	— 0,0041	0,5989
NH_4	1,538	— 0,0126	1,5254
Ca.	— 0,174	0,0524	— 0,1216
Mg	— 0,082	0,0193	— 0,0627
	17,6227	41,5964	59,2111
Dazu Wasserwanderung durch Harnverdünnung			— 20,172
Bluteindickung			30,420
			10,179
Gesamtverbrauch in Liter-Atmosphären			69,4001

trierungen noch hinzu. In den Zahlen vostehender Tabelle bedeutet ein minus die gewonnene Arbeit.

Zu den Liter-Atmosphären der Einzelkonzentrierungen kommt noch obige Arbeit der Wasserwanderung hinzu, so daß die Arbeit bei Herstellung eines verdünnten Harnes der angenommenen Zusammensetzung 69,4 Liter-Atmosphären beträgt.

2. Berechnung der Nierenarbeit unter verschiedenen physiologischen Annahmen über Filtration, Rückresorption und Sekretion.

Es wird jetzt wieder die Nierenarbeit nach obigen Formeln ausgerechnet, wobei natürlich die Vorzeichen zu berücksichtigen sind, weil hier bei der Verdünnung häufig Arbeit gewonnen wird. Und zwar wird bei 9 Litern Harn einmal eine Filtration von 4,5 Litern (wie ich sie annehme) und Dazufügen von ebensoviel Wasser in den Tubulis, das zweite Mal bei Absonderung von 9 Litern Filtrat, also der gleichen Menge wie definitiver Harn, das dritte Mal bei Filtrieren von 150 Litern Filtrat, wobei die Anreicherung auch des am meisten konzentrierten Stoffes lediglich durch Wasserrückresorption geschieht (wie die meisten Autoren heute glauben), berechnet. Ich stelle wieder die Zahlen für die Einzelkonzentrierungen ohne die Korrektur für die Wasserbewegung und die Blutveränderung zusammen; die letzteren Zahlen sind für alle Fälle die gleichen und oben zur Feststellung der Gesamtnierenarbeit angeführt. Nierenarbeit in Liter-Atmosphären zur Herstellung der Einzelkonzentrationen bei 9 Litern verdünnten Harnes:

Stoff	Ohne jede Voraussetzung	Bei 4,5 Litern Filtrat	Bei 9 Litern Filtrat	Bei 150 Litern Filtrat
Na	— 9,291	— 9,4770	— 9,477	— 9,360
Cl	— 8,559	— 8,7692	— 8,775	— 8,775
U^+	30,600	30,5955	30,5955	30,303
U^-	0,0837	0,0837	0,0448	0,0837
K	0,362	0,3627	0,3639	0,3645
PO_4	0,576	0,5768	0,5792	0,585
SO_4	1,966	1,9656	1,9656	1,9715
Kreat.	0,6030	0,6026	0,6026	0,6026
NH_4	1,538	1,5386	1,4450	1,5386
Ca	— 0,174	— 0,1667	— 0,1433	— 0,1667
Mg	— 0,082	— 0,0813	— 0,0778	— 0,0777
	17,6227	17,2313	17,1235	17,0695

Die unter den verschiedensten Annahmen des Ausmaßes der Filtration berechneten Werte für die Nierenarbeit zur Herstellung der Einzelkonzentrationen ergeben also wieder wie bei der Einengung des Harnes so auch hier bei der Verdünnung untereinander die gleichen Zahlen. Es ist also der Weg, auf welchem man sich die Harnbereitung vorstellt, für die Be-

rechnung der Nierenarbeit gleichgültig. Und zwar sind diese Wege sehr verschieden. Denn das eine Mal wird angenommen, daß nur die Hälfte des definitiven Harnes als provisorischer Harn dem Glomerulus entströmt, das andere Mal, daß von 150 Litern Glomerulusfiltrat 141 Liter wieder zurückgenommen werden, damit die Anreicherung einiger spezifischer Stoffe ohne Sekretion erreicht werde. So sind auch die Mengen filtrierten Stoffes, sezernierten oder rückresorbierten Stoffes außerordentlich verschieden. Und immer sind die Werte der Nierenarbeit gleich und stimmen mit denen überein, die ohne jede physiologische Voraussetzung berechnet werden.

C. Besprechung der Ergebnisse.

Es ergibt sich also zunächst, daß die Werte, welche man unter den verschiedensten Vorstellungen der Filtration, Rückresorption und Sekretion für die Nierenarbeit berechnet, die gleichen Werte für die Harnbereitung liefern, die sich ohne jede physiologische Voraussetzung nur aus den Daten des Harnes und des Blutes berechnen lassen, und unter sich bei der Einengung gleich sind, wie auch unter sich bei der Verdünnung. Dies spricht einerseits dafür, daß die Berechnungen richtig sind, andererseits aber schwindet die Möglichkeit, durch Berechnung der Nierenarbeit eine Entscheidung zwischen den einzelnen physiologischen Vorstellungen zu treffen. Es bleibt also nur die Wahrscheinlichkeit übrig, die den einzelnen Theorien zukommt. Besonders unwahrscheinlich erscheint mir die Vorstellung, daß die Konzentrierung der spezifischen Harnbestandteile nur durch Filtration und Rückresorption vor sich geht. Man bedenke, daß bei Herstellung eines verdünnten Harnes von der halben Gesamtkonzentration des Blutes 150 Liter Glomerulusfiltrat fließen müssen, damit die Annahme einer Sekretion vermieden wird, und daß von dem Körper, der einen Überschuß von Wasser ausscheiden will, 141 Liter zurückresorbiert werden müssen, ganz zu schweigen von den filtrierten 1255 g NaCl, von denen 1253,4 g wieder zurückresorbiert werden, und zwar gerade dann, wenn das Glomerulusfiltrat in rascher Folge die Kanälchen durcheilt. Wenn aber unter diesen Verhältnissen eine Sekretion einiger spezifischer Harnbestandteile die bei weitem größere Wahrscheinlichkeit besitzt, so liegt es nicht allzufern, grundsätzlich eine Sekretion zuzulassen. Bei großem Wasserüberschuß des Körpers sieht man den Harn außerordentlich dünn werden und nur ganz geringe Mengen von Kochsalz enthalten, und zwar je weniger, je mehr Harn fließt; dies fordert doch wohl zu der Vorstellung heraus, daß dies Wasser aus dem Tubulus stammt, wie ich (7) 1906 auseinandersetzte. Freilich handelt es sich bei dieser meiner Vorstellung in unserem Beispiel nur um 4,5 Liter, die zu dem provisorischen Harn von 4,5 Litern dazugefügt wurden. Und so halte ich es für das Wahrscheinlichste, daß die Wasserwanderung immer nur in dem absolut notwendigen Ausmaß erfolgt, wie es die Gesamtkonzentration bei Rückresorption oder Verdünnung

Tabelle.

Stoff	Nierenarbeit in Liter-Atmosphären (ohne physiologische Annahmen berechnet); Ausscheidung der täglichen Schlacken:									
	Bei 0,75 Liter Harn		Bei 1,5 Liter Harn		Bei 4,5 Liter Harn		Bei 9 Liter Harn		Bei 18 Liter Harn	
	Harn-veränderung	Blut-veränderung	Harn-veränderung	Blut-veränderung	Harn-veränderung	Blut-veränderung	Harn-veränderung	Blut-veränderung	Harn-veränderung	Blut-veränderung
Na	+ 4,413	— 0,389	+ 0,896	— 0,000	— 5,482	+ 0,008	— 9,291	+ 22,757	— 13,414	+ 44,230
Cl	+ 7,254	— 0,386	+ 2,773	— 3,855	— 4,276	+ 0,059	— 8,559	+ 19,013	— 27,846	+ 39,716
U^+	+ 62,010	— 1,287	+ 53,235	— 11,759	+ 39,371	0,444	+ 30,600	— 0,202	+ 21,821	— 0,790
U^-	+ 0,369		+ 0,290	— 0,115	+ 0,163		+ 0,083	— 0,001	+ 0,005	
K	+ 4,007		+ 2,991	— 1,149	+ 1,381		+ 0,362	— 0,007	+ 0,655	
PO_4	+ 2,077		+ 1,664	— 1,913	+ 1,006		+ 0,576	— 0,007	+ 0,158	
SO_4	+ 3,750		+ 3,250	— 0,761	+ 2,539		+ 1,966	— 0,012	+ 1,492	— 0,075
Kreat.	+ 1,229		+ 1,054	— 0,402	+ 0,778		+ 0,603	— 0,004	+ 0,451	— 0,215
NH_4	+ 3,639		+ 3,058	— 1,173	+ 2,124		+ 1,538	— 0,013	+ 0,720	
Ca	+ 0,193		+ 0,093	— 1,539	— 0,063		0,174	+ 0,052	— 0,275	
Mg	+ 0,192		+ 0,109	1,398	— 0,027		— 0,082	+ 0,019	— 0,166	
	+ 89,133	— 2,062	+ 69,413	— 24,062	+ 37,524	— 0,377	+ 17,622	+ 41,595	- 16,499	+ 82,866
	— 2,062		— 24,062		— 0,377		+ 41,595		+ 82,866	
	87,071		45,351		37,147		+ 59,217		+ 66,367	
Wasser										
Harn	+ 52,299		+ 32,084		0,0		— 20,241		— 40,190	
Blut	— 22,874		— 19,053		0,0		+ 30,420		+ 87,165	
	+ 29,425		+ 13,031		0,0		+ 10,179		+ 46,975	
	+ 116,496		+ 58,282		+ 37,147		+ 69,396		+ 113,342	

erfordert, daß also die Wasserwanderung nach dem Gefrierpunkt von Harn und Blut vor sich geht.

D. Vergleich der Nierenarbeit bei verschiedenen Harnmengen.

Nachdem sich nun herausgestellt hat, daß die Nierenarbeit unabhängig von dem Wege ist, auf dem die Harnbereitung stattfindet, und für einen bestimmten Harn einen bestimmten Wert hat, kann der zweiten Frage näher getreten werden, in welcher Harnmenge die täglichen Ausscheidungen der Stoffe mit der geringsten Arbeit erfolgt, mit anderen Worten, ob man der Niere ihre täglich notwendige Ausscheidung durch Wassertrinken oder durch Dursten erleichtert. Es wird also die Arbeit berechnet, welche bei Ausscheidung der gleichen absoluten Mengen von festem Stoff täglich notwendig ist, wenn die Harnmenge klein oder groß ist.

Man ersieht aus dieser Tabelle, daß naturgemäß nicht nur die Arbeit wechselt, welche zur Konzentrierung des Harns im ganzen oder zur Verdünnung nötig ist, also für die Wasserwanderung verbraucht wird — sie ist bei konzentriertem Harn groß (wegen der Konzentration des Harns), bei isotonischem Harn gleich Null, bei verdünntem steigt sie wieder an (wegen der Konzentrierung des Blutes, die mit der Ausscheidung eines verdünnten Harns verbunden ist) —, sondern daß auch die Arbeit zur Herstellung der Einzelkonzentrationen verschieden groß ist, wenn die Harnmenge wechselt. Dies liegt daran, daß bei konzentriertem Harn alle Bestandteile eingeengt werden, also Konzentrationsarbeit erfordern, daß z. B. bei 1,5 Liter Harn diese Arbeit für alle Stoffe positiv ist, also aufgewandt werden muß, daß aber schon bei 4,5 Liter Harn (isotonisch) einige Stoffe in geringerer Konzentration im Harn als im Blut sind, also Verdünnungsarbeit gewonnen wird. So beträgt die Arbeit der Stoffwanderung bei 0,75 Liter Harn 87 Liter-Atmosphären, bei 1,5 Liter Harn 45,4 Liter-Atmosphären, bei 4,5 Liter Harn 37,1 Liter-Atmosphären. Bei weiterer Vermehrung der Harnmenge wächst die Arbeit wieder an, weil jetzt einige Stoffe, wie Kochsalz, im Harn gegenüber dem Blut in geringerer Konzentration auftreten, und das Blut daher konzentrierter an diesen Stoffen werden muß; so steigt die Arbeit für die Stoffwanderung bei 9 Liter Harn schon wieder auf 59,2 Liter-Atmosphären an, um bei 18 Liter Harn 66,4 Liter-Atmosphären zu erreichen.

Bemerkenswert ist die Tatsache, daß bei Absonderung eines blutisotonischen Harns, wie er bei Nierenkranken auftritt, bei denen die Niere weder konzentrieren noch verdünnen kann, gleichzeitig auch die geringste Arbeit für die Ausscheidung der Einzelbestandteile aufgewandt wird. Es erscheint also diese Einstellung der Niere nicht nur als eine Unfähigkeit, sondern für die Ausscheidung der Harnbestandteile als zweckmäßige Sparmaßnahme, und nur vom Standpunkt der Wasserbilanz als Versagen. Zweitens fällt auf, daß bei normaler Harnmenge von 1,5 Liter die hier

berücksichtigten Stoffe (also wohl die Hauptmenge) alle im Harn konzentrierter erscheinen als im Blut, daß also eine Rückresorption in nur beschränktem Maße stattfindet (wie ich meine, eben grade in dem Maße des notwendigen Molekularaustausches), daß aber schon bei 4,5 Liter Harn die Rückresorption zu einer Verdünnung einzelner Harnbestandteile, also dem Gegensatz von Ausscheidung, führt. So erscheint die normale Harnmenge von dem Standpunkt einer sparsamen Rückresorption als günstige Einstellung; der Gesamtverbrauch an Arbeit ist ja auch mit 45,4 Liter-Atmosphären dem Minimum von 37,1 Liter-Atmosphären bei isotonischem Harn recht nahe. Es spricht diese bei normaler Harnmenge von 1,5 Liter am Tage sich (ohne jede physiologische Voraussetzung) ergebende Sparsamkeit der Rückresorption dafür, daß tatsächlich die Harnbereitung mit einer solchen sparsamen Rückresorption vor sich geht, und daß nicht die Ausscheidung aller Einzelbestandteile auf einer übergroßen Rückresorption der meisten Stoffe beruht, um den am meisten angereicherten Stoff zu konzentrieren, daß also eine minimale Rückresorption im Sinne eines Molekularaustausches stattfindet, und nicht eine maximale.

E. Zusammenfassung.

Es wurde die Nierenarbeit ohne jede physiologische Voraussetzung berechnet, die zur Absonderung des Tagesharnes notwendig ist; man braucht dazu nur die Daten, welche Harn und Blut liefern.

Man kann nun außerdem die Arbeit berechnen, wenn man physiologische Annahmen macht, z. B. den Vorgang der Harnbereitung in Filtration und Rückresorption oder Filtration und Sekretion zerlegt.

Es wurden nun die Zahlen der Einzelstoffe in Blut und Harn nach Cushny im Tagesharn von 1,5 Litern zugrunde gelegt und bei einer Filtration von 4,5 Litern im Glomerulus die Nierenarbeit berechnet; dann wurde angenommen, daß die Filtration am Tage 150 Liter beträgt. Die dabei errechneten Werte für die Arbeit sind unter sich gleich, und zwar auch gleich den ohne physiologische Annahmen errechneten. Dies war physikalisch zu erwarten, da eben die Arbeit ohne Voraussetzung errechenbar ist, also der Weg, auf dem die Harnbereitung stattfindet, für die aufgewendete Arbeit gleichgültig ist.

Nimmt man einen gegenüber dem Blut aufs Doppelte verdünnten Harn an, indem man die Bestandteile des Harnes, die am Tage abgesondert werden, auf 9 Liter verteilt, so ergibt sich ebenfalls eine Konzentrationsarbeit, weil verschiedene Stoffe in höherer Konzentration im Harn erscheinen als im Blute. Man kann auch diese Arbeit ohne physiologische Annahmen berechnen, und dann unter Zugrundelegung der verschiedenen Theorien der Harnabsonderung die Nierenarbeit feststellen. Es ergeben sich wieder untereinander die gleichen Werte. Ob man eine Verdünnung durch Dazufügen von Wasser im Tubukus annimmt, oder eine Filtration

von 150 Litern, um die Anreicherung aller Stoffe nur auf Filtration und Rückresorption von Wasser zurückzuführen, die Arbeit der Niere ist die gleiche bei Bereitung des gleichen Harnes.

Die Arbeit beträgt bei einem Tagesharn von 1,5 Litern eines im ganzen aufs Dreifache eingeengten Harnes 58,382 Liter-Atmosphären, bei der Herstellung eines auf die halbe Blutkonzentration verdünnten Harnes 69,4 Liter-Atmosphären.

Vergleicht man die tägliche Nierenarbeit bei verschiedenen Harnmengen, so ist die Arbeit bei 0,75 Liter groß (116 Liter-Atmosphären), wird bei 1,5 Liter Harn kleiner (58 Liter-Atmosphären), erreicht bei 4,5 Liter isotonischen Harnes ein Minimum (37 Liter-Atmosphären), um bei Vergrößerung der Harnmenge auf 9 Liter wieder zu steigen (auf 69 Liter-Atmosphären) und bei 18 Liter Harn 113 Liter-Atmosphären zu erreichen. Diese Schwankungen gelten nicht nur für die Gesamtarbeit, sondern auch für die Arbeit zur Ausscheidung der Einzelbestandteile. Da die Arbeit zur Ausscheidung der Einzelbestandteile bei isotonischem Harn ein Minimum hat, so erscheint die Einstellung einer kranken Niere auf einen solchen Harn nicht nur als Unfähigkeit zur Konzentrierung oder Verdünnung (im Sinne der Wasserbilanz), sondern gleichzeitig auch als Sparmaßnahme an Ausscheidungsarbeit. Der normale Harn von 1,5 Liter zeigt die sparsamste Rückresorption, wenn man die Harnwerte mit den Blutwerten (ohne jede Theorie) vergleicht; dies spricht dafür, daß tatsächlich eine sparsame Rückresorption erfolgt.

F. Schrifttum.

1) Dreser: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **29**, 303 (1892). — 2) Galeotti: Arch. Anat. u. Physiol. 1902, S. 200; Rohrer: Pflügers Arch. **109**, 315 (1905); Cushny: Absonderung des Harns, übers. v. Noll u. Püschel. Jena, Fischer, 1926; Handb. d. norm. u. path. Physiol. IV, 328 (1929). Berlin, Springer. — 3) Rein: Einf. i. d. Physiologie d. Menschen. Berlin, Springer, 1936. — 4) Frey, E.: Pflügers Arch. **177** (1919). — 5) Fleckenstein: Ebenda **246**, 411 (1943). — 6) Frey, E.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **165**, 621 (1932); **177**, 134 (1935). — 7) Frey, E.: Pflügers. Arch. **112** (1906).

Aus der Pharmazeutischen Abteilung der Byk-Guldenwerke, Oranienburg.
(Leiter: Dr. Peter Marquardt.)

Untersuchungen über die Toxizität des d- und l-Adrenalins und der entsprechenden Ascorbinate.

Von

P. Marquardt und **R. Koch.**

(Eingegangen am 15. Oktober 1943.)

Bei der pharmakologischen Prüfung des in unserem Laboratorium synthetisierten Adrenalinascorbinats [Tonhormon] (1) (2) (3) mußten wir diese Substanz auf ihre Toxizität prüfen. Die gegebene Vergleichssubstanz für das Adrenalinascorbinat (Tonhormon) ist das Adrenalin. Hierbei mußten wir zu unserer Überraschung feststellen, daß einwandfreie Angaben über die Toxizität von d- und l-Adrenalin fehlen. Es liegt dies daran, daß das Adrenalin als das älteste chemisch bekannte Hormon zu einer Zeit untersucht wurde, in der die mathematischen Methoden, die heute allgemein üblich sind, in der Pharmakologie noch nicht bekannt waren. Wir nahmen daher diese Gelegenheit zum Anlaß, um das d- und l-Adrenalin gemeinsam mit dem d- und l-Adrenalinascorbinat nach der Methode von Behrens und Kärber (4) zu untersuchen.

Über die Toxizität des d- und l-Adrenalins finden sich in der Literatur eine ganze Reihe von Angaben, die teils voneinander stark abweichen, teils, wie schon ausgeführt, in der Methodik heute nicht mehr befriedigen. So wird stets nur die sogenannte letale Dosis angegeben, während die exakteste Bestimmung unter Zuhilfenahme der Wahrscheinlichkeitsrechnung die Festlegung der Dosis letalis darstellt, bei der 50 % der Tiere sterben (D. L. 50). Da wir in unseren Versuchen die weiße Maus als Testtier verwenden, so haben wir in dieser Arbeit auch nur die darauf bezüglichen Arbeiten angezogen. Nur im Falle des Vergleichs zwischen d- und l-Adrenalin sollen auch andere Untersuchungen mitberücksichtigt werden, da entsprechende Vergleiche verhältnismäßig selten angestellt worden sind.

H. Schultz (5) fand an der Maus bei subcutaner Injektion des l-Adrenalins die letale Dosis bei 4—8 γ/g. Sehr ähnlich liegen die Werte bei Emmert (6), sowie Abderhalden und Slavu (7), die als letale Dosis **0,1** mg/Tier angeben. Rechnet man diesen Wert auf das Durchschnittsgewicht einer Maus um, so gelangt man zu Werten von 5—10 γ/g. Diese Berechnung wird von Abderhalden und Gellhorn (8) in einer späteren

Arbeit bestätigt. (Absolut letale Dosis des l-Adrenalins an der weißen Maus 7—8 γ/g.) Hierbei verwendeten die Autoren nur 18—20 g schwere Mäuse und weisen darauf hin, daß möglichst mit gleichschweren Tieren zu arbeiten ist, da größere Tiere sich sehr häufig resistenter gegenüber dem Adrenalin verhalten als kleinere. Allen hier aufgeführten Beobachtungen widersprechen die Angaben von Edkins und Linell (9), die die letale Dosis des l-Adrenalins bei der weißen Maus mit 1 γ/g bestimmten. Wie später ausgeführt wird, entspricht dieser Wert dem von uns für die DL. 50 gefundenen. Die vorher genannten Werte liegen dagegen erheblich höher, auch wenn berücksichtigt wird, daß es sich um absolut letale Dosen handelt. Wenn man nämlich durch 2 dividiert, um annähernd zur DL. 50 zu gelangen, so erhält man immer noch wesentlich höhere Werte, als die von uns gefundenen. Die von Edkins und Linell angegebenen Werte entbehren leider der Möglichkeit einer kritischen Betrachtung, da die beiden Autoren nur die von ihnen gefundenen Zahlen angeben, dagegen die Durchführung des Experiments, d. h. die Methodik, mit der sie zu diesem Resultat gekommen sind, nicht ausführen.

Nach diesen Angaben erschien es als durchaus berechtigt, die DL. 50 des l-Adrenalins zu bestimmen, schon um einen exakten Vergleich zum d-Adrenalin zu gewinnen; denn hier gehen die Angaben in der Literatur noch mehr auseinander.

So fand Cushny (10) bei der Ratte das d-Adrenalin 6—8mal geringer „giftig" als das l-Adrenalin.

Ähnlich sind die Angaben von Abderhalden und Kautzsch (11). Sie fanden bei der weißen Maus als letale Dosis für d-Adrenalin 1—2 mg/Tier gegenüber 0,1 mg/Tier l-Adrenalin. Das gleiche Resultat fanden Abderhalden und Gellhorn (l. c.), d. h. eine zehnfach größere Toxizität des l-Adrenalins. Demgegenüber stehen die Beobachtungen von Lannoy und Menguy (12), die an Kaninchen eine 20—30mal größere Toxizität des l-Adrenalins feststellten: 0,00025—0,0003 g/kg l-Adrenalin gegenüber 0,0065—0,007 g/kg d-Adrenalin als Dosis letalis.

Die von uns gefundenen Werte liegen zwischen denen von Abderhalden und Mitarbeitern gefundenen und denjenigen von Lannoy und Menguy. Damit würde sich die allgemein gefundene Tatsache bestätigen, daß das d-Adrenalin etwa 10—15mal geringer toxisch ist als das l-Adrenalin.

Wir verwendeten in unseren Versuchen weiße Mäuse von 10—20 g Gewicht. Tiermaterial mit konstanterem Gewicht, wie es z. B. Abderhalden und Gellhorn (l. c.) fordern, haben wir nicht genommen. Wir haben aber die Tiere der verschiedensten Gewichte zwischen 10—20 g in den einzelnen Kollektiven und entsprechenden Dosen verwendet. Dadurch gewinnen die von uns gefundenen Werte den Charakter von Durchschnittswerten.

Bei der Verwendung der verschiedenen Adrenalinlösungen und Adrenalin-Ascorbinatlösungen wurden entsprechend den Angaben von Renaud und Miget (13) immer gleichkonzentrierte Lösungen verwendet, d. h. Lösungen mit gleichbleibendem Adrenalingehalt. Die beiden Autoren stellten nämlich fest, daß die gleiche Menge Adrenalin in höheren Konzentrationen subcutan einem Meerschweinchen injiziert toxischer wirkt, als die gleiche Menge in verdünnterer Lösung. Unsere Lösungen enthielten beim l-Adrenalin jeweils 100 γ/ccm. Dies entspricht beim Adrenalin-Ascorbinat 300 γ Substanz/ccm, da das Verhältnis Adrenalin : Ascorbinsäure im Ascorbinat 1 : 2 ist. Beim d-Adrenalin mußten höhere Konzentrationen gewählt werden infolge seiner geringeren Wirksamkeit. Es kam in Lösungen zu 1 mg/ccm zur Anwendung, entsprechend das d-Adrenalin-Ascorbinat 3 mg/ccm. Alle Lösungen wurden den Tieren steril subcutan injiziert. Als Substanzen verwendeten wir das handelsübliche l-Adrenalin (Hersteller Bykopharm-Frankfurt). Das d-Adrenalin wurde uns vollständig rein ebenfalls von der Bykopharm-Frankfurt in freundlicher Weise zur Verfügung gestellt*.

Die Austestung der Substanzen erfolgte nach der Methode Behrens-Kärber (4), wobei wir uns der Anleitung van der Waerdens (14) bedienten. In allen Fällen wurden Tierkollektive von 6 Tieren verwendet. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 1—3 dargestellt.

Tabelle 1. l-Adrenalin.

Dosis γ/g	Zahl der Tiere	Tot	Lebend	Dosis γ/g	Zahl der Tiere	Tot	Lebend
0,5	6	0	6	1,2	6	2	4
0,6	6	1	5	1,5	6	0	6
0,7	6	2	4	1,8	6	3	3
0,8	6	2	4	2,1	6	4	2
0,86	6	1	5	2,16	6	3	3
1,0	6	2	4	2,2	6	6	0

Tabelle 2. d-Adrenalin.

Dosis γ/g	Zahl der Tiere	Tot	Lebend	Dosis γ/g	Zahl der Tiere	Tot	Lebend
14,2	6	0	6	22,8	6	4	2
15,2	6	1	5	24,4	6	4	2
16,3	6	0	6	26,1	6	2	4
17,4	6	0	6	27,9	6	6	0
18,6	6	1	5	29,9	6	1	5
19,9	6	5	1	32,0	6	6	0
21,3	6	5	1				

* Herrn Direktor Bockmühl der I. G. Farbenindustrie (Werk Höchst) sind wir ebenfalls für die Überlassung von d-Adrenalin zu Dank verpflichtet.

Tabelle 3. l-Adrenalin-Ascorbinat (Tonhormon).

Dosis γ/g	Zahl der Tiere	Tot	Lebend	Dosis γ/g	Zahl der Tiere	Tot	Lebend
1,5	6	0	6	2,8	6	2	4
1,75	6	1	5	3,0	6	3	3
1,8	6	2	4	3,5	6	3	3
2.0	6	3	3	4,1	6	4	2
2,1	6	2	4	4,5	6	4	2
2,3	6	2	4	4,6	6	5	1
2,4	6	4	2	4,7	6	6	0

Tabelle 4. d-Adrenalin-Ascorbinat.

Dosis γ/g	Zahl der Tiere	Tot	Lebend	Dosis γ/g	Zahl der Tiere	Tot	Lebend
48,8	6	0	6	59,8	6	3	3
52,2	6	2	4	66,0	6	5	1
55,9	6	4	2	68,5	6	6	0

Die untere und obere Grenze, d. h. dort, wo kein Tier oder alle sterben, wurde dadurch genau festgelegt, daß wir über die Grenzen hinausgingen und die nächst höheren bzw. tieferen Dosen ebenfalls austesteten. Als Gegenwert wurde dann nur derjenige verwertet, bei dem tatsächlich jeweils die nächst höhere oder tiefere Dosis dasselbe Resultat zeigte. So erklärt es sich, wenn wir z. B. beim d-Adrenalin (vgl. Tabelle 1) nicht die Dosis 27,9 γ/g als obere Grenze bewerteten, da bei 29,9 γ/g noch von 6 Tieren 1 Tier überlebte und erst bei 32,0 γ/g und den dann folgenden Dosen in jedem Fall alle Tiere starben. Entsprechend verhält es sich, nur im umgekehrten Sinne, bei der Dosis 17,4 γ/g. Gleiches Vorgehen findet sich bei den anderen Substanzen.

Die formelmäßige Berechnung der DL. 50 nach der Methode Behrens-Kärber aus den gefundenen Werten haben wir fortgelassen, und fassen hier nur die Ergebnisse zusammen. Es zeigt sich demnach folgendes Bild:

1. l-Adrenalin: DL. 50 = 1,47 γ/g ± 0,14 γ/g. Die Dosis liegt erheblich niedriger als die von anderen Autoren gefundene, mit einer Ausnahme, der von Edkins und Linell.

2. d-Adrenalin: DL. 50 = 22,53 γ/g ± 0,77 γ/g. Umgerechnet zeigt sich eine 15fach stärkere Wirkung des l-Adrenalins.

3. l-Adrenalin-Ascorbinat (Tonhormon): DL. 50 = 2,82 γ/g ± 0,2 γ pro g, bezogen auf Tonhormonsubstanz. Wird die DL. 50 auf den l-Adrenalingehalt umgerechnet, so ist die DL. 50 des l-Adrenalins im Ascorbinat etwa 0,94 γ/g; d. h. daß die toxische Wirkung des l-Adrenalins in seiner Verbindung mit der Ascorbinsäure um 36% größer ist, als wenn es allein appliziert wird.

4. d-Adrenalin-Ascorbinat: DL. 50 = 56,49 γ/g $\pm$ 1,59 γ/g, bezogen auf Tonhormonsubstanz. Wird auf seinen Gehalt an d-Adrenalin umgerechnet, so ist die DL. 50 des Adrenalins im Ascorbinat etwa 18,83 γ/g; d. h. daß die toxische Wirkung des d-Adrenalins im Ascorbinat um 16% größer ist als im reinen d-Adrenalin.

Ferner ergibt sich aus den Werten des l-Adrenalin-Ascorbinats und d-Adrenalin-Ascorbinats, daß das letztere etwa 20mal schwächer ist als die l-Form.

Das Vergiftungsbild der beiden optischen Isomeren des Adrenalins als auch das der beiden Adrenalinascorbinate ist einander vollkommen gleich. Individuell und je nach der Dosis verschieden tritt der Tod der Tiere nach verschiedenen Zeiten ein. Bald nach der Injektion beobachtet man zunächst eine große Unruhe, bis die forcierte Atmung mit deutlich sichtbaren, sehr erheblichen Zwerchfellexkursionen einsetzt. Die Tiere liegen dann flach auf dem Bauch. Dabei treten die Augen deutlich hervor (Exophthalmus). Schnauze, Pfoten, Ohren und Schwanz sind cyanotisch. Schließlich kommt es zu Streckkrämpfen, die besonders die hinteren Extremitäten befallen. Die Tiere befinden sich dabei manchmal in Bauchlage, manchmal in Seitenlage. Entweder setzt dann anschließend eine vorübergehende Lähmung der hinteren Extremitäten ein, die schließlich mit Abklingen des ganzen Vergiftungsbildes ebenfalls verschwindet, oder es kommt zu einigen sehr starken krampfartigen Zuckungen, denen der Exitus sofort folgt.

Eine Erklärung für die geringere Toxizität der rechtsdrehenden optischen Isomeren wird sich nach dem heutigen Stand der Kenntnisse nur schwer finden lassen. Anders verhält es sich mit dem unterschiedlichen Verhalten der Toxizität des reinen Adrenalins und seines Ascorbinats.

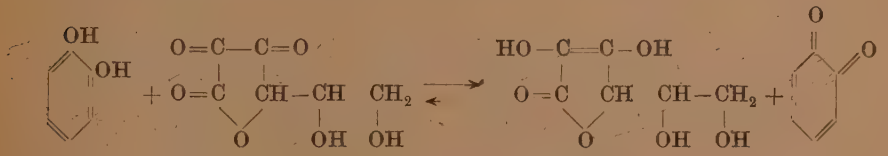
Wie schon angeführt, wurde eine Verstärkung der Adrenalinwirkung durch Ascorbinsäure häufig beobachtet [Literatur siehe Marquardt (3)].

Das Adrenalin ist chemisch unbeständig, daher muß seine Wirkung je nach der Applikationsart verschieden ausfallen. Sehr schön sieht man dies in einer Arbeit von Rosenkranz (15), der für die letale Dosis des Adrenalins in den verschiedenen Applikationsformen folgende Verhältnisreihe beim Kaninchen aufstellte.

per os :	subcutan :	intravenös:
0,03	0,015	0,0002.

Dieser Effekt beruht darauf, daß das Adrenalin bei seiner Einverleibung in den Körper in einen p_H-Bereich gelangt, der für seine Haltbarkeit extrem ungünstig ist, und daher seine Wirkung von der Länge der Zeit abhängt, die der Stoff vom Eintrittsort bis zum Wirkungsort benötigt. An anderer Stelle hat Marquardt (16) diese Zeit als die Latenzzeit des Adrenalins bezeichnet. Diese Latenzzeit kommt bei der Wirkung des

Adrenalinascorbinats weitgehend in Fortfall, und so erklärt sich die „stärkere" Wirkung des Ascorbinats außerordentlich einfach. Weiter steigert die Ascorbinsäure fraglos den Nutzeffekt des Adrenalins noch auf andere Weise. Folgt man der Ansicht Marquardts (3), so muß man annehmen, daß die Ascorbinsäure in den Wechsel des Adrenalins (als Wasserstofftransporteur) mit seinem Chinon aktiv eingreift. Der Sinn eines solchen Eingreifens ist es, die Weiteroxydation des Adrenalinchinons zu unwirksamen Verbindungen aufzuhalten, und so das Adrenalin der Zelle zu erhalten (siehe Formel).



Adrenalin Dehydroascorbinsäure Ascorbinsäure Oxyd. Adrenalin

(Die Seitenkette des Adrenalins wurde aus Gründen der Übersicht nicht berücksichtigt.)

Die Ergebnisse dieser Toxizitätsprüfung erklären auch die klinischen Befunde von Öttel (17), der die therapeutische Dosis des Tonhormons am Menschen niedriger fand als es nach dem Adrenalingehalt zu erwarten war, und der weiter darauf hinweist, daß die intramuskuläre Darreichung des Tonhormons sogar manchmal die intravenöse zu ersetzen vermag, und daß ihm kein Stoff aus der Reihe der Sympathicomimetica bekannt sei, der mit solcher Sicherheit oral so intensiv wirkt wie das Adrenalinascorbinat. In schöner Übereinstimmung mit diesen Befunden stehen die in dieser Mitteilung wiedergegebenen Resultate der Toxizitätsbestimmung.

Zusammenfassung.

Es wird die Toxizität des d- und l-Adrenalins, sowie des d- und l-Adrenalin-Ascorbinats (Tonhormon) nach subcutaner Injektion an der weißen Maus nach der Methode von Behrens-Kärber geprüft. Das d-Adrenalin zeigte sich 15mal schwächer wirksam als das l-Adrenalin. DL. 50 des l-Adrenalins wurde mit 1,47 γ/g $\pm$ 0,14 γ/g, die DL. 50 des d-Adrenalins mit 22,53 γ/g $\pm$ 0,77 γ/g gefunden.

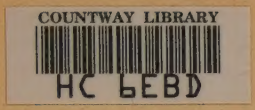
Das l-Adrenalin als Ascorbinat ist um 36% toxischer als seinem l-Adrenalingehalt entspricht. Ähnlich verhält es sich beim d-Adrenalin, doch sind es hier nur 16%.

l-Adrenalin-Ascorbinat (Tonhormon) hat eine DL. 50 von 2,82 γ/g $\pm$ 0,2 γ/g und das d-Adrenalin-Ascorbinat eine DL. 50 von 56,49 γ/g $\pm$ 1,59 γ/g. Bezogen auf den Adrenalingehalt im Ascorbinat und entsprechend der DL. 50 des Adrenalins im Ascorbinat, beträgt diese beim l-Adrenalin als Ascorbinat DL. 50 = 0,94 γ/g, beim d-Adrenalin als Ascor-

binat DL. 50 = 18,83 γ/g. l-Adrenalin-Ascorbinat zeigte sich 20mal toxischer als die d-Form.

Die Zunahme der Toxizität vom Adrenalin zum Adrenalinascorbinat (Tonhormon) erklärt sich durch die Beeinflussung der Wirkungszeit (bzw. des Oxydationsmechanismus) des Adrenalins und bedeutet praktisch einen Beweis für eine Wirkungssteigerung.

Literatur.

1) Marquardt: Klin. Wschr. **17**, 1445 (1938). — 2) Marquardt: Schweiz. med. Wschr. **70**, 36 (1940). — 3) Marquardt: Z. exper. Med. **109**, 488 (1941). — 4) Behrens u. Kärber: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **162**, 480 (1931). — 5) H. Schultz: J. Pharmacol. (Am.) **1**, 291 (1909/10). — 6) Emmert: Arch. path. Anat. **194**, 144 (1908). — 7) Abderhalden u. Slavu: Z. physiol. Chem. **59**, 129 (1909). — 8) Abderhalden u. Gellhorn: Arch. ges. Physiol. **210**, 462 (1925). — 9) Edkins u. Linell: Quart. J. Pharmacy **9**, 202 (1936). — 10) Cushny: zit. Heubner-Heffters Handb. exper. Pharmak. **2**, 2, 1275 (1924). — 11) Abderhalden u. Kautzsch: Z. physiol. Chem. **61**, 119 (1909). — 12) Lannoy u. Menguy: C. r. Soc. Biol. **83**, 1510 (1920); **87**, 1066 (1922). — 13) Renaud u. Miget: Ebenda **105**, 201 (1930). — 14) van der Waerden: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **195**, 389 (1940). — 15) Rosenkranz: Ebenda **189**, 568 (1938). — 16) Marquardt: In Vorbereitung. — 17) Oettel: Schweiz. med. Wschr., im Druck.

41B21